



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Medicina Veterinaria

Unidad de Posgrado

Aplicación del método de reflectancia en infrarrojo cercano (NIRS) para determinar el valor nutritivo de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*) y trébol rojo (*Trifolium pratense*)

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Ciencia Animal
con mención en Producción y Reproducción Animal

AUTOR

Carlos Alberto ESTUPIÑAN MORALES

ASESOR

Mg. Sandra Gracia BEZADA QUINTANA

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Estupiñan C. Aplicación del método de reflectancia en infrarrojo cercano (NIRS) para determinar el valor nutritivo de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*) y trébol rojo (*Trifolium pratense*) [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Unidad de Posgrado; 2019.

HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

Código ORCID del autor	-----
DNI o pasaporte del autor	09540564
Código ORCID del asesor	https://orcid.org/0000-0001-9516-0805
DNI o pasaporte del asesor	07630662
Grupo de investigación	Grupo de Investigación en Nutrición y Alimentación Animal (GINAA)
Agencia financiadora	PAIS
	PERÚ
	NOMBRE Y SIGLAS DE LA AGENCIA FINANCIADORA

	NOMBRE DEL PROGRAMA FINANCIERO:

	N° DE CONTRATO
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	LUGAR
	Lima/ Lima/ San Borja
	COORDENADAS GEOGRAFICAS
Año o rangos de años en que se realizó la investigación	12°03'00"S 77°02'00"O
	2018-2019
Disciplinas OCDE	Ciencias veterinarias https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA
Facultad de Medicina Veterinaria



UNIDAD DE POSGRADO

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE
MAGÍSTER EN CIENCIA ANIMAL CON MENCIÓN EN PRODUCCIÓN Y
REPRODUCCIÓN ANIMAL**

En el Auditorio de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, siendo las 10:00 horas del día jueves 28 de noviembre de 2019, el Jurado Examinador de Tesis de Grado de Magíster, presidido por el Dr. Miguel Ángel Ara Gómez (**presidente**) y constituido por los siguientes miembros: Mg. Sandra Bezada Quintana (**Asesora**), Mg. Jeam David Rojas Egoavil, Mg. Víctor Hidalgo Lozano, se dio inicio a la sustentación oral y pública de la Tesis intitulada:

“Aplicación del método de reflectancia en infrarrojo cercano (NIRS) para determinar el valor nutritivo de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*) y trébol rojo (*Trifolium pratense*)”, presentado por el Bachiller:

CARLOS ALBERTO ESTUPIÑAN MORALES

Quien sustentó la Tesis para obtener el Grado Académico de Magíster en Ciencia Animal con mención en Producción y Reproducción Animal y absolvió satisfactoriamente las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado y practicada la votación obtuvo la calificación de: **MUY BUENO (17) DIECISIETE .**

A continuación, el Presidente del Jurado recomendó a la Unidad de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria, proponga el otorgamiento del **Grado Académico de Magíster en Ciencia Animal con mención en Producción y Reproducción Animal**, al Bachiller: **Carlos Alberto Estupiñan Morales.**

Siendo las 11:30 horas del día jueves 28 de noviembre de 2019, se dio por concluido el acto académico, suscribiéndose la presente Acta.

.....
Dr. Miguel Ángel Ara Gómez (P.A.D.E.)
Presidente

.....
Mg. Sandra Bezada Quintana (P. Asoc. D.E.)
Miembro (Asesora)

.....
Mg. Víctor Hidalgo Lozano
Miembro Externo

.....
Mg. Jeam David Rojas Egoavil (P. Ax. D.E.)
Miembro

.....
Dr. Cesar Miguel Gavidia Chucán (P.P.D.E.)
Director de la Unidad de Posgrado
Facultad de Medicina Veterinaria
UNMSM



DEDICATORIA

A Dios por darme la oportunidad de pertenecer a una gran institución como la UNMSM.

A mis padres que me apoyaron siempre en mis decisiones y a seguir mi vocación.

A las personas y amigos que me han brindado su confianza y apoyo:

A mi directora Mg. Sandra Bezada Quintana.

A la Dra. Teresa Arbaiza Fernández

Al Mg. Hugo Samamé Beltrán

Al Dr. Ignacio Ramírez Vallejos

Al Mg. Oscar Vera Colona

Al Ing. Juan Muscari Greco

Al Dr. Julián Rodríguez Matos

A la Mg. Maite Baquerizo Revilla

A la Mg. Rosemary Barreto Ríos

A la Mg. Carla Aguilar Afay Yong

A mis tesisistas:

Ing. Joel Carrión Unchupaico

MV. Verónica Pantoja Berrocal

MV. Roxana Vargas Vargas

A mis auxiliares de laboratorio UAP:

Aux. Rayssa Cari Cahuana

Aux. Ronald Béjar García

Aux. Cristhian Ortiz Serna

Aux. Ronald Najarro Soto

AGRADECIMIENTOS

A la UNMSM por permitirme ser parte de este importante conglomerado de investigadores e investigaciones.

A mis padres por el constante apoyo incondicional que me brindaron cada día de mi vida.

A mis abuelos por guiarme desde muy pequeño en esta actividad de la producción, nutrición y alimentación animal, que gracias a ellos se constituyó en un juego, diversión y ahora trabajo desde el inicio de mi razón.

A todos aquellos que me brindaron apoyo, fuerzas y esfuerzo para la culminación del presente trabajo de investigación.

INDICE DEL CONTENIDO

Acta des sutentación.....	ii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Índice del contenido.....	v
Resumen.....	vii
Abstract.....	viii
Lista de cuadros.....	ix
Lista de figuras.....	x
Lista de anexos.....	xi
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	3
2.1 Leguminosas.....	3
2.2 Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)	4
2.3 Trébol rojo (<i>Trifolium pratense</i>).....	5
2.4 Análisis proximal o Weende.....	7
2.4.1 Materia seca.....	8
2.4.2 Proteína cruda.....	8
2.4.3 Extracto etéreo.....	8
2.4.4 Cenizas totales o materias minerales (CZ).....	9
2.4.5 Fibra cruda.....	9
2.5 Análisis de fibra detergente neutra (FDN), Van Soest.....	9
2.6 Espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS).....	9
2.6.1 Bases químicas y físicas.....	9
2.6.2 Calibración.....	12
2.6.3 Uso de NIRS y la predicción de la composición química en alimentos.....	12
2.7 Espectros y ecuaciones en NIRS.....	13
2.7.1 Calibraciones, calculo y selección de ecuaciones.....	13
2.7.2 Aplicaciones.....	14
III. MATERIALES Y METODOS.....	15
3.1 Lugar de estudio.....	15
3.2 Muestras y caracterización.....	15
3.3 Preparación de las muestras.....	16
3.3.1 Etapa 1: Selección de forrajes.....	16

3.3.2	Etapa 2: Obtención de las muestras.....	16
3.3.3	Etapa 3: Análisis de Weende y protocolo Van Soest.....	17
i.	PC (AOAC 976.05).....	17
ii.	EE (AOAC 920.39).....	17
iii.	CZ (AOAC).....	17
iv.	FC (AOAC 978.10).....	18
v.	FDN (protocolo de Van Soest).....	18
3.3.4	Etapa 4: Obtención y registro de los espectros.....	18
3.3.5	Etapa 5: Calibración de técnica NIRS.....	19
3.3.6	Etapa 6: Validación de técnica NIRS.....	20
IV.	RESULTADOS.....	22
4.1	Análisis químico proximal y evaluación NIRS	22
V.	DISCUSION.....	36
VI.	CONCLUSIONES.....	41
VII.	RECOMENDACIONES.....	42
VIII.	REVISION BIBLIOGRAFICA.....	43
IX.	ANEXOS.....	53

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar vía la aplicabilidad de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) la valoración nutritiva de dos especies y dos variedades de pisos forrajeros importantes en nuestro país: alfalfa (*Medicago sativa*) (ALF) y trébol rojo (*Trifolium pratense*) (TR). Con este fin se utilizaron 75 muestras de variedades de ALF (SW 8210, WL 625Hq) y 75 muestras de variedades de TR (Quiñequeli, Kendland) obtenidas de los campos de la Estación Experimental IVITA–Mantaro, en las cuales se realizó el análisis proximal y se determinó el contenido de proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), fibra cruda (FC), cenizas totales (CZ) y fibra detergente neutra (FDN), realizándose la captura del espectro mediante equipo NIRS. Se elaboraron los modelos de calibración y validación para estimar la capacidad predictiva mediante Cuadrados Mínimos Parciales (PLS), siendo los estadísticos de exactitud y precisión usados el Coeficiente de Correlación (R), Coeficiente de Determinación (R^2), Raíz Cuadrada Media del Error de Calibración (RMSEC), Raíz Cuadrada Media del Error de Predicción (RMSEP), Proporción del Rango con el Error (RER) y Desviación Residual Predictiva (RPD). Los modelos matemáticos obtenidos muestran que la técnica NIRS resulta ampliamente satisfactoria para la determinación de los parámetros evaluados PC, CZ, y FDN (R^2 : 0.97, 0.99, 0.94; RPD: 2.00, 2.17 y 2.00, respectivamente).

Palabras clave: NIRS, calibración, leguminosa, Análisis Proximal, Fibra Detergente Neutra

ABSTRACT

The aim of the present study was to determine via of the near infrared or near spectroscopy (NIRS) the nutritional assessment of two species and two varieties of important forage floors in our country: alfalfa (*Medicago sativa*) (ALF) and red clover (*Trifolium pratense*) (TR). In order to this end, 75 samples of varieties of ALF (SW 8210, WL 625Hq) and 75 samples of TR varieties (Quiñequeli, Kendland) obtained from the cultivation fields of the Experimental Station IVITA-Mantaro, were used the proximal analysis and the crude protein (PC), ether extract (EE), total ash (CZ) and neutral detergent fiber (NDF) content were determined, with the capture of the spectrum by means of NIRS equipment. The calibration and validation models were elaborated to estimate the predictive capacity by means of Partial Minimum Squares (PLS), being the accuracy and precision statistics used the Correlation Coefficient (R), Determination Coefficient (R^2), Mean Square Root of the Calibration (RMSEC), Mean Square Root of the Prediction Error (RMSEP), Ratio of the Range with Error (RER) and Predictive Residual Deviation (RPD). The reported results show a great variation in the nutritional composition of the forages evaluated. The information on the chemical composition is broad and the quality will be influenced by several factors. The obtained mathematical models show that the NIRS technique is widely satisfactory for the determination of the parameters PC, CZ, y FDN (R^2 : 0.97, 0.99, 0.94; RPD: 2.00, 2.17 y 2.00, respectively).

Key words: NIRS, Proximal Analysis, Raw Protein, Raw Fiber, Ether Extract, Total Ashes, Neutral Detergent Fiber

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición química de la Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>) (%MS)	5
Cuadro 2. Composición química del Trébol rojo (<i>Trifolium pratense</i>) (%MS)	6
Cuadro 3. Enlaces químicos, grupos funcionales y bandas de absorción en región NIRS	11
Cuadro 4. Valor mínimo y máximo, rango, promedio, desviación estándar, varianza y coeficiente de variación del set de calibración de alfalfa (n = 50 muestras) y del set de validación (n= 25 muestras), en base seca.	23
Cuadro 5. Estadísticos descriptivos de calibración y validación de las ecuaciones obtenidas para la determinación de análisis químico proximal y FDN de Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)	24
Cuadro 6. Estadísticos estimadores de la calidad de la calibración y validación para análisis proximal y FDN de alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)	24
Cuadro 7. Valor mínimo y máximo, rango, promedio, desviación estándar, varianza y coeficiente de variación del set de calibración de trébol rojo (n = 50 muestras) y del set de validación (n= 25 muestras), en base seca.	27
Cuadro 8. Estadísticos descriptivos de calibración y validación de ecuaciones obtenidas para la determinación del análisis químico proximal y FDN de trébol rojo (<i>Trifolium pratense</i>)	27
Cuadro 9. Estadísticos estimadores de calidad de calibración para análisis químico proximal y FDN de trébol rojo (<i>Trifolium pratense</i>)	28
Cuadro 10. Valor mínimo y máximo, rango, promedio, desviación estándar, varianza y coeficiente de variación del set de calibración de alfalfa – trébol rojo (n = 100 muestras) y del set de validación (n = 50 muestras), en base seca.	30
Cuadro 11. Estadísticos descriptivos de calibración y validación de ecuaciones obtenidas para la determinación del análisis químico proximal y FDN de ALF (<i>Medicago sativa</i>) y de trébol rojo (<i>Trifolium pratense</i>)	31
Cuadro 12. Estadísticos estimadores de calidad de calibración para análisis químico proximal de ALF (<i>Medicago sativa</i>) y de TR (<i>Trifolium pratense</i>)	32
Cuadro 13. Regiones del espectro utilizadas y distancia para cada nutriente evaluado de alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)	34
Cuadro 14. Regiones del espectro utilizadas y distancia para cada nutriente evaluado de trébol rojo (<i>Trifolium pratense</i>)	34
Cuadro 15. Regiones del espectro utilizadas y distancia para cada nutriente evaluado para alfalfa (<i>Medicago sativa</i>) y trébol rojo (<i>Trifolium pratense</i>), análisis simultaneo	35
Cuadro 16. Distribución de variedades por semana de corte utilizadas para calibración y validación NIRS, de las especies alfalfa (<i>Medicago sativa</i>) y trébol rojo (<i>Trébol rojo</i>)	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Curvas de calibración y validación obtenidas para componentes PC (1a), EE (1b), CZ (1c), FC (1d) y FDN (1e). Obtenidas del programa TQ Analyst TM (Anexo 1)	25
Figura 2. Espectro NIRS en log 1/R y número de ondas de alfalfa (<i>Medicago sativa</i>), LBNAÁ-FMV-UNMSM, Lima (Anexo 2)	26
Figura 3. Curvas de calibración y validación obtenidas para componentes PC (4a), EE (4b), CZ (4c), FC (4d) y FDN (4e). Obtenidas del programa TQ Analyst TM (Anexo 3)	28
Figura 4. Espectro NIRS en Log1/R y número de ondas de trébol rojo (<i>Trifolium pratense</i>). LBNAÁ-FMV-UNMSM, Lima (Anexo 4)	30
Figura 5. Curvas de calibración y validación obtenidas para componentes PC (5a), EE (5b), CZ (5c), FC (5d) y FDN (5e). Obtenidas del programa TQ Analyst TM (Anexo 5)	32
Figura 6. Espectros NIRS en Log1/R y número de ondas de alfalfa (<i>Medicago sativa</i>) (n=75 muestras) y trébol (<i>Trifolium pratense</i>) (n=75 muestras), LBNAÁ-FMV-UNMSM, Lima. Obtenidas por el programa TQ Analyst TM (Anexo 6)	33

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Curvas de calibración para componentes de ALF: PC (1a), EE(1b), CZ (1c), FC (1d) y FDN (1e), obtenidos del programa TQ Analyst TM	54
Anexo 2. Espectros reportados por NIRS para ALF	57
Anexo 3. Curvas de calibración para componentes de TR: PC (3a), EE(3b), CZ (3c), FC (3d) y FDN (3e), obtenidos del programa TQ Analyst TM	58
Anexo 4. Espectros reportados por NIRS para TR	61
Anexo 5. Curvas de calibración para componentes de ALF - TR en evaluación simultanea: PC (1a), EE(1b), CZ (1c), FC (1d) y FDN (1e), obtenidos del programa TQ Analyst TM	62
Anexo 6. Espectros reportados por NIRS para ALF y TR en evaluación simultanea	65
Anexo 7. Data de ALF	66
Anexo 8. Data de TR	68
Anexo 9. Data de ALF – TR	70

I. INTRODUCCION

El control analítico de las dietas es el punto crítico para la aplicación práctica de los conocimientos científicos generados en el campo de la evaluación de nutrientes, en nutrición y alimentación animal. Es así como se hace necesaria la aplicación de técnicas de determinación de contenido nutricional rápidas, efectivas, de alta confiabilidad y alta repetibilidad que permitan evaluar los ingredientes y su calidad nutricional para ser utilizados en el diseño de dietas en la producción animal (Davies and Grant, 1987; Torres y Vélez, 2010).

Los sistemas de alimentación al pastoreo plantean, aparentemente, una menor necesidad de controlar la calidad del forraje, sin embargo, este aspecto es muy importante. Houston and Pinchak (1991) señalan que la eficiencia o no de los diferentes sistemas de explotación pecuaria, debe estar basado sobre el monitoreo adecuado de la calidad nutricional y estado fenológico de los pisos forrajeros usados en la producción animal.

De manera convencional y tradicionalmente los ingredientes, insumos y pisos forrajeros tanto en fresco, henificados y ensilados son caracterizados nutricionalmente en base al análisis químico de estos y el grado de relación con el comportamiento productivo o categoría de las diversas especies en las distintas explotaciones pecuarias. Uno de ellos es el Análisis Proximal, el cual nos determina materia seca (MS), proteína cruda (PC) extracto etéreo (EE), cenizas totales (CZ) y fibra cruda (FC), correspondiendo con las determinaciones 930.15, 920.39, 978.10, 976.05, 942.05 de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990). El Análisis proximal y la determinación de Fibra Detergente Neutra (FDN) por el método Van Soest, caracterizan el valor nutricional con razonable precisión, sin embargo, demandan tiempo, altos costos y sus desechos generados son contaminantes del medioambiente. El tiempo requerido para el procesamiento de una muestra es entre seis y ocho días, fluctuando los precios entre US \$65.00 y US \$100.00 (T. Arbaiza, comunicación personal, 12 noviembre de 2018).

Dentro de los productos de desecho generados en el proceso del análisis proximal destacan dos que son considerados contaminantes ambientales: dióxido de carbono y borato de amonio (Shenk *et al.*, 1979). De este modo, la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS, por sus siglas en inglés) es la técnica de elección a los métodos convencionales siendo amplísima su potencialidad para conseguir composiciones químicas confiables y rápidas de pisos forrajeros, de diversos estados fenológicos y de diversas latitudes sin producir desecho alguno en su utilización (Givens *et al.*, 1997).

El potencial del procedimiento NIRS está respaldado con una adecuada extensiva y sistemática valoración convencional de muestras y su respectivo contraste con los espectros de absorción obtenidos, desarrollados, calibrados y validados, generados experimentalmente por muestreo para forrajes y/o insumos de diferentes especies, variedades, tipos, ecotipos, procedencias y estados fenológicos (Marten *et al.*, 1999, Chen *et al.*, 2007; Andueza *et al.*, 2011), constituyéndose de este modo en un paso importante hacia la aplicabilidad de NIRS en reemplazo de los métodos tradicionales y convencionales (Liu *et al.*, 2011).

Por lo tanto, se necesita evaluar, analizar y validar patrones de insumos alimenticios por diversos métodos con sus espectros, para una adecuada calibración y validación. Esta calibración es la creación de modelos matemáticos que vinculan las respuestas obtenidas del equipo y la composición química nutricional de las muestras seleccionadas y evaluadas por un laboratorio. Esta sofisticación del equipo en uso generará cientos de medidas individuales de múltiples longitudes de onda y se hace conveniente y necesario el uso de programas estadísticos en el procesamiento de datos, con repetitividad y exactitud en laboratorio (De La Roza, 1993).

Por lo anteriormente señalado, el objetivo de la presente investigación es determinar la aplicabilidad de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para la valoración nutritiva de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*) (ALF) y variedades de trébol rojo (*Trifolium pratense*) (TR).

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Leguminosas

Las leguminosas pertenecen al orden de las fabales y junto con los cereales son la base de la alimentación humana y animal (FAO, 2016). Se consideran tres grupos de leguminosas: forrajeras, granos y sub productos. El primer grupo está constituido por la alfalfa (*Medicago sativa*), trébol rojo (*Trifolium pratense*) y trébol blanco (*Trifolium repens*) y otras utilizadas como forraje. El segundo grupo está constituido por la soya en grano y similares. El tercer grupo está constituido por los subproductos de la industria alimenticia humana como las tortas de leguminosas oleaginosas entre otras (Voisin *et al.*, 2014).

Las leguminosas tienen un elevado contenido proteico (15 – 45 %), por lo que su amplio consumo ha propiciado la determinación de los factores limitantes nutricionales de forrajes, granos y piensos, además del conocimiento rápido y eficiente de su composición nutricional (Moreno, 1983).

El éxito del uso de leguminosas forrajeras, de grano y subproductos consiste en diseñar dietas balanceadas en aminoácidos esenciales, siendo la principal limitación los niveles bajos en lisina que éstos presentan (Vasta *et al.*, 2008). La susceptibilidad a la presencia de metabolitos secundarios dependerá del estado fenológico del forraje, especie vegetal, variedad, especie animal, dieta, periodo de tiempo de exposición en la alimentación o uso de éstas y la composición de la flora ruminal (Rubio y Molina, 2016).

2.2 Alfalfa

La alfalfa, por cantidad, calidad nutricional y alta palatabilidad, es uno de los recursos forrajeros más importantes utilizados en alimentación animal. De alto rendimiento, largo periodo de vida forrajera (hasta 10 años) y gran adaptabilidad a distintas condiciones ambientales y edafológicas (Albán, 1992; Andina y Argote, 2006; Bacigalup y Rossanigo, 2006). Su cultivo es plurianual, con varios cortes al año, no sufriendo grandes oscilaciones del valor nutritivo entre éstos. La mejora en el conocimiento del manejo de pasturas, contenido nutricional y antinutrientes redundará en un mejor diseño de dietas para la producción animal y es de suma importancia para el crecimiento de este sector. Por lo que, se debe tener en cuenta no solo su valor nutritivo, lo cual puede variar con la edad o especie, sino además la presencia de compuestos participantes en la protección de la planta contra bacterias, insectos y animales herbívoros, (compuestos denominados antinutrientes) los cuales presentan diversos mecanismos de acción (Ming-Cheng *et al.*, 1994).

Adaptación y clima

El cultivo de la alfalfa se realiza en una amplia gama de climas, la temperatura promedio diaria debe ser superior a 5°C, siendo la temperatura óptima de 25°C y disminuye su crecimiento en temperaturas inferiores a 10°C y superiores a 30°C. En climas cálidos, la producción es más alta en condiciones secas en comparación con las húmedas. Se usa como cultivo de rotación, debido a la fijación de nitrógeno y de materia orgánica (FAO, 2014). Es susceptible a daños por excesos de humedad atribuido a la carencia de oxígeno radicular, generando metabolitos tóxicos y produciendo necrosis del xilema radicular (Zook and Stolzy, 2002). El exceso de humedad causa pérdidas del cultivo y de su calidad nutricional, incrementando la presencia de malezas y disminuyendo la producción y calidad del forraje (Donovan and Meek, 2010). Los suelos ácidos generan problemas en el crecimiento de este cultivo, siendo los más complicados los efectos sobre la nutrición fosfatada, toxicidad de aluminio, toxicidad de manganeso, deficiencia de magnesio, potasio y molibdeno; así como inhibición de la fijación de nitrógeno y deformaciones radiculares (Morón, 2000; Marschner, 2008). La alfalfa se adapta mejor a suelos alcalinos y es moderadamente tolerante a la salinidad; su mejor producción se obtiene en suelos profundos, de textura media, buen drenaje con niveles de salinidad menor a 2dS/m y con menos de 15% de sodio intercambiable (Cueto y Quiroga, 2000).

Descripción de la alfalfa en el Valle del Rio Mantaro

En el valle del Mantaro, durante el periodo de lluvias, la alfalfa crece de 0.45 - 0.90 m de alto. En época de estío o seca con riego, crecen solo 0.10 m en dos meses (Ordoñez y Bojórquez, 2011; Rojas, 2017).

Variedades

Existen diversas variedades adaptadas a las condiciones de nuestros valles interandinos, así como en la costa. Las de mayor uso son: “California 55”, “WL 625Hq”, “WL Beacon”, “SW-8210”, “Moapa”, “Ranger” y “Alabama” (Noli *et al.*, 2006).

En el Cuadro 1 se aprecia las diferentes composiciones químicas de los constituyentes en evaluación para valorar el contenido nutricional y calidad de la alfalfa (*Medicago sativa*), mediante el valor relativo del forraje (FEDNA, 2014).

Cuadro1. Composición química de la Alfalfa (*Medicago sativa*) (%MS)

VRF ¹	PC	EE	CZ	FB
Excelente (>151)	18.8	2.34	10.2	23.6
Primera (125-151)	17.6	2.11	10.1	27.6
Segunda (103-124)	15.9	2.00	10.1	30.6
Tercera (87- 102)	14.1	1.86	9.98	34.2
Cuarta (75- 86)	13.4	1.50	10.8	37.8

(Fuente: FEDNA, 2014)

CZ: cenizas, PC: proteína cruda, EE: extracto etéreo, FB: fibra bruta

¹Valor relativo del forraje: ingestión de MS vs. Digestibilidad del forraje = $[(88.9 - (0.78 \times \text{FAD}\%)) \times (120 / \text{FND}\%)] / 1.29$

Bojórquez *et al.* (2015) reportan valores de 22.70% de PC y 40.41% de FDN para alfalfa cultivada en el valle del Mantaro, sin especificar la edad.

2.3 Trébol rojo

El Trébol rojo es una leguminosa y un excelente cultivo forrajero, de gran importancia en la producción animal, especialmente en el ganado que se cría en valles interandinos. Por su alto contenido proteico puede asociarse fácilmente a otras pasturas como por ejemplo gramíneas; asegurando un mejor crecimiento de éstas últimas, potenciando su disponibilidad y la calidad de los piensos. Tiene alta capacidad de adaptación y establecimiento, tolera

suelos ácidos (pH 5.5), requieren gastos de mantenimiento bajos, dejando la tierra en buenas condiciones de fertilidad y aptas para la rotación de cultivos. Todo esto hace que esta leguminosa sea un eficiente recurso forrajero con elevado potencial nutricional, conduciendo al desarrollo de una ganadería sostenible (Torres y Sierra, 2000).

Descripción de Trébol rojo

Es una leguminosa ideal para zonas altoandinas de nuestro país. Perteneciente a la familia de las herbáceas semiperennes de 0.10 - 0.60 m de alto, pudiendo alcanzar 1.10 m (según la temporada) y de pilosidad variable, con tallos ascendentes, sistema radicular pivotante profundo y con numerosas raíces adventicias (Ordóñez y Bojórquez, 2011). Se auto siembra, con tiempo de producción de entre cinco o más años, siendo en sierra central de hasta siete años. Su uso se ve limitado por su potencialidad de producir meteorismo (Bojórquez *et al.* 2015).

Variedades

Las variedades más utilizadas en nuestro país y con excelente adaptación en el valle del Mantaro son: “Kendland” (Estados Unidos de América), “Hamua”, “Turoa” y “Pawera” (Nueva Zelanda) y “Quiñequeli” (Chile) (Bojórquez *et al.*, 2015).

En el Cuadro 2 se aprecia las diferentes composiciones químicas de los constituyentes en evaluación para valorar el contenido nutricional y calidad del TR (*Trifolium pratense*), mediante el valor relativo del forraje (FEDNA, 2014).

Cuadro 2. Composición química del Trébol rojo (*Trifolium pratense*) (%MS)

VRF ¹	PC	EE	CZ	FB
Excelente (>151)	22.7	2.34	10.2	33.5
Primera (125-151)	16.7	2.11	10.1	26.97
Segunda (103-124)	13.6	2.00	10.1	26.65
Tercera (87-102)	12.7	1.86	9.98	24.85
Cuarta (75- 86)	8.7	1.50	10.8	23.00

(Fuente: FEDNA, 2014).

CZ: cenizas, PC: proteína cruda, EE: extracto etéreo, FB: fibra bruta

¹Valor relativo del forraje: ingestión de MS vs. Digestibilidad del forraje = $[(88.9 - (0.779 \times \text{FAD}\%)) \times (120 / \text{FND}\%)] / 1.29$

Bojórquez *et al.* (2015) reportan valores de 22.86% de PC y 55.71% de FDN para trébol rojo cultivado en el valle del Mantaro, sin especificar la edad.

Adaptación y clima

Prospera en suelos moderadamente ácidos (pH sobre 5,5), es una de las leguminosas forrajeras más resistentes a la acidez del suelo. A pH inferior a 5,5 la nodulación es pobre y habría respuesta a la fertilización nitrogenada. Similar ocurrencia se observa en suelos neutros con períodos de sequía. El elemento más limitante para su desarrollo es el fósforo y ante altos rendimientos aumentarían los requerimientos de potasio, por lo que habría que aplicarse en suelos que no tengan déficit de este elemento (Torres y Sierra, 2000).

2.4 ANÁLISIS PROXIMAL DE WEENDE

Los forrajes han sido caracterizados químicamente con métodos convencionales (Análisis proximal de Weende), los cuales nos brindan datos en las determinaciones correspondientes a materia seca (%MS), extracto etéreo (%EE), proteína cruda (%PC) y cenizas totales (%CZ) según la AOAC (1990). Los análisis comprendidos dentro de este grupo, en primer lugar, se aplican a insumos que se usarán para diseñar dietas terminadas, como control y verificación, que cumplan con las especificaciones o requerimientos establecidos durante la formulación (FAO, 1993).

El método para determinar la composición química de los forrajes se basa en el sistema proximal de los alimentos, que se creó para obtener una clasificación amplia y con un nivel máximo de los componentes de alimentos. Consiste en la determinación analítica del agua (humedad), cenizas, grasa bruta (extracción con éter), proteína, fibra bruta y el extracto libre de nitrógeno (ELN) representado por los azúcares y almidones, que se calcula por diferencia (Greenfield y Southgate, 2003).

Esta evaluación analítica es un índice del valor nutritivo de las muestras evaluadas y las fracciones aisladas obtenidas deberán estar correlacionadas lo mejor posible con los valores y las propiedades nutricionales de los diversos insumos, pero requiere de conocimientos nutricionales para su uso adecuado y correcta interpretación (Cañas, 1998).

2.4.1 Materia seca (MS)

El método más empleado para determinación de materia seca (MS) es el de la AOAC (1990) y Undersander *et al.*, (1993) señalando que: “la determinación del contenido en MS de una muestra consiste en provocar la evaporación del agua presente en la misma, permitiéndonos conocer el contenido en MS por gravimetría”.

2.4.2 Proteína cruda (PC)

Nutriente más apreciado, cuya evaluación adecuada permite controlar la calidad de los insumos proteicos utilizados en el alimento suministrado. El análisis se efectúa mediante el método de Kjeldahl, el cual determina el nitrógeno de la muestra (AOAC, 1990) mediante tres pasos básicos:

- i. Digestión de la muestra en ácido sulfúrico con un catalizador, hasta convertir todo el nitrógeno a la forma amoniacal.
- ii. Destilación del sulfato amónico en una solución atrapadora.
- iii. Cuantificación del amoniaco por valoración con una solución estándar.

Una vez determinado el contenido de nitrógeno en la muestra, se multiplica por el factor de conversión 6.25 que nos aproxima al contenido de PC (AOAC, 1990).

La fracción nitrogenada no proteica (NNP) de la planta varía con el estado fisiológico de la planta, cuanto más favorables es la condición de crecimiento, más alto es el contenido de NNP, así como el valor nitrógeno total y a medida que la planta madura, decrecen ambos (McDonald *et al.*, 2006).

2.4.3 Extracto etéreo (EE)

El procedimiento es la extracción con éter dietílico, disolviendo grasas, aceites, pigmentos y sustancias liposolubles (AOAC, 1990). Este solvente es evaporado de la solución y el residuo libre de agua o desecado y adherido a las paredes del recipiente, es pesado. La razón de obtener EE, es aislar la fracción de los forrajes que tenga elevado valor calórico. Este método es válido si el EE está formado principalmente por grasas y esterres de ácidos grasos; pero los porcentajes elevados de ceras vegetales, aceites esenciales, resinas y otros compuestos hacen que esta prueba tenga poco significado, ya que estos compuestos son de poco valor nutritivo para los animales (Pond *et al.*, 2010).

2.4.4 Cenizas totales o materias minerales (CZ)

La determinación de este componente se procesa vía oxidación de toda la materia orgánica y a una temperatura de 600°C a 700°C en una mufla durante 2 horas (AOAC, 1990).

2.4.5 Fibra cruda (FC)

Las muestras secas y molidas, después de pasar por digestión en ácido sulfúrico e hidróxido de sodio, el residuo obtenido se calcina durante dos horas en una mufla entre 600°C -700°C. Se determina por diferencia de pesos post calcinación, esto indica la cantidad de fibra presente (FAO, 1993).

2.5 ANÁLISIS DE FIBRA DETERGENTE NEUTRA (FDN), VAN SOEST.

El Método Van Soest es usado para determinación de FDN. En presencia de solución detergente neutra, se disuelven los carbohidratos proteínas, azúcares y lípidos, como pectina de la pared celular, el residuo representará a las paredes celulares y a sus contenidos como son la lignina, hemicelulosa y celulosa (Shenk *et al.*, 1979; Van Soest *et al.*, 1991).

La solución detergente utilizada solubiliza a proteínas, el sulfito sódico elimina compuestos nitrogenados rompiendo enlaces di-sulfuro. El ácido etilen-diamin-tetra-acético (EDTA) es utilizado como agente quelante del calcio, eliminando pectinas en el punto de ebullición. El trietilenglicol elimina porciones de materia no fibrosa de raciones o piensos y la amilasa elimina almidón. Con dos adiciones de amilasa se mejora la precisión de esta determinación, facilitando la filtración de insumos con alto contenido de almidón (Van Soest *et al.*, 1991).

2.6 ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN EL INFRARROJO CERCANO (NIRS)

2.6.1 Bases químicas y físicas

Al hacer incidir luz infrarroja sobre una molécula, es posible que ésta absorba esa energía y eso pueda provocar que un enlace se estire (vibración de estiramiento). La espectroscopia infrarroja, por lo tanto, es vibracional, permitiendo el análisis de vibraciones moleculares,

midiendo longitud, intensidad y absorción de la onda cercana de luz infrarroja en los diversos componentes químicos a evaluar de las muestras (Valenciaga y Saliba, 2006).

Desde los años setenta el análisis NIRS es una técnica alternativa a procesos químicos y biológicos convencionales; de estimación segura y rápida de la composición nutricional de la muestra evaluada (De la Roza, 1993). Es no destructiva y de alta precisión, siempre y cuando los procedimientos hayan sido adecuados y permitan generar buenas ecuaciones de predicción y calibración (Alomar y Fuchslocher, 1997; Cozzolino *et al.*, 2006).

Esta técnica ha sido validada y usada en varios países como Estados Unidos de América (Blosser *et al.*, 1988), Nueva Zelanda (Corson *et al.*, 1999), España (García *et al.*, 1993) y Colombia (Vásquez *et al.*, 2004). En nuestro país no existe experiencia en el uso de NIRS para forrajes y los pocos equipos existentes están dedicados, por ejemplo, a la evaluación de germoplasma de papa y camote en el Centro Internacional de la Papa (CIP, 2014) o para el control de calidad de insumos para la formulación de raciones en Purina - Perú (Purina, 2014). La tecnología NIRS se basa en la determinación del espectro de luz - absorción de una muestra en el infrarrojo cercano entre los 700 – 2500 nm, con suficiente energía como para excitar y generar sobretonos, combinaciones de estos y sus vibraciones a niveles moleculares (Deaville and Flinn, 2000).

Valenciaga *et al.* (2007) indican: “que existen muchas experiencias sobre el uso del NIRS en la valoración de diversos insumos para producción animal; para el caso de *Pennisetum purpureum* las ecuaciones de calibración para la materia seca (MS), proteína cruda (PC), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente acida (FDA), celulosa, hemicelulosas, lignina, cenizas y digestibilidad *in vitro* de la MS fueron apropiadas, no sólo por tener un error estándar de calibración bajo, sino también por el alto valor del coeficiente de determinación”.

La experiencia en la valoración de diversos heno mediante NIRS para predecir PC y CZ fue buena; regulares para FDN e inferiores para FDA y MS (Cozzolino *et al.*, 2006). El uso de NIRS en pasturas cultivadas tropicales de América Central permitió obtener coeficientes de determinación (R^2) altos (Sandoval *et al.*, 2008). El análisis de PC en NIRS de diversas pasturas reportó en muestra seca y fresca, coeficientes de determinación de $R^2 = 0.99$ para la calibración (Castro, 2002).

En la determinación de PC en harina de yuca (*Manihot esculenta*), las ecuaciones de calibración presentaron coeficientes de determinación superiores al 95%, y correlaciones superiores de 97%, esto indica alto poder de predicción, siendo la relación entre la desviación estándar del análisis químico y el error estándar de la validación cruzada (SD/SECV) en todos los casos superior a 3 (Jiménez, 2007).

La técnica NIRS admite estudiar %PC, %EE, %CZ, %FC y %FDN, organizando curvas y gráficas con altos porcentajes de correlación mayores a 90% (Cruz y Sánchez, 2000). NIRS mide grupos funcionales orgánicos cuantitativamente (OH, NH y CO), el haz de luz da en la muestra, los fotones se transmiten por la muestra en evaluación y la diferencia es absorbida por enlaces covalentes, oscilando como resortes unidos a la longitud de la onda o radiación lumínica (Cajarville *et al.*, 2003). Los fotones vibran sus enlaces moleculares al absorberse: (1) extendidos aumentando la distancia interatómica a lo largo del eje entre dos átomos (frecuencias altas o menor longitud de onda), (2) doblados (frecuencias bajas o longitudes mayores de onda), cambiando el ángulo entre enlaces de dos átomos (Alomar y Fuchslocher, 1997). La energía liberada incita el recalentamiento de la muestra. La absorción luminosa depende de los grupos funcionales involucrados (Alomar y Fuchslocher, 1997; Deaville and Flinn, 2000), y que se interpreta con la ayuda de un software.

En el Cuadro 3 se muestran las bandas de absorción de enlaces químicos en la región NIRS de los principales nutrientes o componentes o constituyentes nutricionales.

Cuadro 3. Enlaces químicos, grupos funcionales y bandas de absorción en región NIRS

Longitud onda nm	Constituyente	Grupo funcional
1200nm	Lípidos	CH
1440nm	Agua y Carbohidratos	OH
1780nm	Lípidos	CH
1940nm	Agua	OH
1980nm	Proteínas	NH
2080nm	Carbohidratos	OH
2180nm	Proteínas	CO y NH
2320nm	Lípidos	CH

(Fuente: Davies and Grant, 1987)

La ventaja del espectro NIRS está estimada en longitudes de ondas menores a espectros en el infrarrojo medio (MIRS), permitiendo trabajar muestras húmedas heterogéneas (Beyer, 1997).

2.6.2 Calibración

Es el modelo matemático que relaciona la composición química de la muestra medida con la respuesta del equipo. Se requiere paquetes estadísticos para el procesamiento de las muestras, resultados, espectros (De La Roza, 1993).

El éxito radica en la realización del análisis rápido, alta repetibilidad, reproducibilidad, exactitud y una escasa o nula preparación de la muestra (análisis no destructivo), con ahorro o no uso considerable de reactivos (Valenciaga y Saliba, 2006).

2.6.3 Uso de NIRS y la predicción de la composición química en alimentos

Las evaluaciones previas en la valoración nutricional de insumos alimenticios son diversas en nutrición animal; para calibración las ecuaciones de la materia seca (MS), proteína cruda (PC), fibra detergente neutra (FDN), ceniza (CZ), lignina, hemicelulosa, celulosa fueron apropiadas, con un elevado valor en el coeficiente de determinación (Valenciaga *et al.*, 2007). La valoración mediante NIRS para predecir PC y CZ fue buena; regular en FDN y bajas en FDA y MS (Cozzolino *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 1990).

El análisis de diversos componentes nutricionales mediante la técnica NIRS en diversas pasturas es muy preciso, en PC tanto en MS y en base húmeda, se obtuvo los siguientes coeficientes de determinación para calibración de 0.99 (Castro, 2002).

Así mismo el análisis de regresión en base húmeda y la evaluación NIRS predijo contenidos de nitrógeno de porciones aéreas de algunos forrajes lineal con coeficiente de determinación para hojas de 94% y para tallos de 91% (Dara *et al.* 1991). En la evaluación de forrajes y sus subproductos se obtuvieron coeficientes de determinación para FDN en hojas de 0.87, para tallos de 4.1 y PC de 0.93 (Reeves, 1994).

El análisis NIRS de alfalfa, consiguió coeficientes de correlación para PC de 99% (Norris *et al.*, 1976; Cozzolino *et al.*, 2003)

La determinación de los coeficientes de calibración R^2 en general, son para PC 98%, CZ 92%, MS 90% y FDN 80%, en la evaluación de insumos para dietas de animales. Con la técnica NIRS se ha evaluado PC, CZ, FC y FDN, generando curvas con porcentajes de correlación mayores a 90% (Cozzolino, 2002).

2.7 ESPECTROS Y ECUACIONES EN NIRS.

2.7.1 Calibraciones, cálculo y selección de ecuaciones

Para realizar una correcta calibración el aspecto primordial será el número de muestras a evaluar, contrastar y validar para obtener resultados satisfactorios (Shenk and Westerhaus, 1993). Previo a realizar la calibración, se necesita contar con muestras representativas de una misma población, estimar la composición química, espectros y analizarlas por un método de referencia confiado y ecuaciones de calibración de espectros versus método de referencia, y validarlas con la misma población que no hayan formado parte inicial de calibración (Gabrielsen *et al.*, 1988). Se puede transferir calibraciones de un equipo a otro, estandarizándolas para corregir desviaciones (Shenk and Westerhaus, 1991).

Al desarrollar la calibración, la información espectral obtenida se relacionará entre composición química, tratamiento matemático de datos, segmento del espectro a considerar, análisis paso a paso de regresión múltiple, nutrientes importantes y cuadrados mínimos parciales (los mejores resultados sean obtenidos con las dos últimas técnicas), todo contribuirá a reducir la información espectral a unas cuantas variables independientes (componentes principales), controlando así el riesgo de sobreajuste. Esto nos permitirá disponer de múltiples ecuaciones posibles para cada variable a predecir. Es necesario seleccionar la más confiable, con alto R^2 y bajo error estándar de calibración (SEC), este atañe al error estándar de la diferencia (ISI, 1992).

El SEC corresponde error estándar de la diferencia (ISI, 1992), aunque no tiene forma universal de expresión, la más aceptada (Davies y Grant, 1987; Murray 1993 y ISI 1992) es:

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum (y-x)^2}{n_c - t - 1}}$$

Dónde: x = valor predicho por NIRS, y = valor de referencia (lab), n_c = número de muestras de calibración, t = número de términos en ecuación de regresión.

Las ecuaciones se evaluarán contra la muestra independiente para validación (las que no integraron el grupo de calibración). Se calcula un R^2 y SEP (ISI, 1992).

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum(y-x)^2}{n_v - 1}}$$

Dónde: x = valor predicho por NIRS, y = valor de referencia (lab) y n_v = número de muestras en el set de validación.

Westerhaus (1989) señala: “El SEP es un indicador confiable de calidad de la ecuación desarrollada, ya que, a diferencia del SEC, que mejora (disminuye) a medida que se le agregan nuevos términos a la ecuación, el SEP mejora sólo hasta que comienza a producirse un sobreajuste de la ecuación, aumentando (empeorando) posteriormente con cada nuevo término”.

Así mismo Kennedy *et al.*, (1996) señalan: “el SEP siempre será algo mayor que el SEC, pero como criterio general, se puede afirmar que una ecuación es considerada como aceptable cuando la magnitud del SEP es menor a un tercio de la desviación estándar de los datos de referencia”.

2.7.2 Aplicaciones.

Es probable que los datos espectrales obtenidos en NIRS, representen mayor exactitud la estructura química de las muestras, antes que su "química húmeda" en FC, FDA, FDN (Barnes and Marten, 1979).

Los procesos químicos (referenciales) para calibraciones, podrían ser sujetos de variaciones, algunas veces pudiendo ser mayores a los datos espectrales. De este modo el contenido de humedad vs materia seca se estima a 105°C, pudiendo ocurrir pérdidas de compuestos (Garrido *et al.*, 1993). Por ejemplo, en el ensilaje hay pérdida de alcoholes y compuestos volátiles. El calor excesivo del secado puede producir sustancias o elementos indigestibles. Siendo el método más recomendable el de liofilizado (Coleman y Windham, 1989). Las condiciones de secado afectan la determinación de paredes celulares y desnaturalización de proteínas, perdiendo solubilidad en detergente neutro (Deinum y Maassen, 1993).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Lugar de estudio

Esta investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (LBNAA), distrito de San Borja, Lima. En el LBNAA se realizaron las evaluaciones químicas y espectrales, aquí se encuentra el equipo NIRS-II-FT-Antaris (Analyzer THERMOTM) que analiza materias sólidas y líquidas. El equipo está constituido por una computadora, software y cápsulas de cuarzo de 4cm de radio, en las cuales se realizó el escaneo de las muestras (secas y molidas mediante criba de 1mm). Las condiciones ambientales donde se encuentra el equipo son 18°C de temperatura y 54% HR. Mediante el uso del software TQ AnalystTM se desarrollaron las ecuaciones de calibración tomando la base de datos de los espectros.

3.2 Muestras y caracterización

Las muestras procesadas son provenientes del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA), Mantaro (Junín – Perú) estación experimental perteneciente a la UNMSM a 3320 msnm. Se utilizaron 75 muestras representativas de cada tipo de forraje (leguminosas) a evaluar: alfalfa (*Medicago sativa*) y trébol rojo (*Trifolium pratense*).

Existen diversas variedades adaptadas a las condiciones de los valles interandinos; para esta investigación se ha tenido en cuenta dos especies forrajeras con dos variedades para cada una: ALF: WL 625Hq y SW 8210; y TR: Kendland y Quiñequeli, las cuales se recolectaron de la estación experimental IVITA – Mantaro, en el valle del mismo nombre

en la región Junín.

Estas fueron elegidas por conveniencia mediante muestreo con edades de corte de 3, 6, 9, 12 y 15 semanas, manteniendo como característica que todos los forrajes muestreados estén dentro del área de siembra indicada por los especialistas de IVITA–Mantaro. El corte fue a 5 centímetros del suelo para evitar contaminación con tierra (Pereira *et al.*, 2012); además de cuidar que los tallos y hojas estén en buen estado.

Las muestras se embalaron para su transporte respectivo en bolsas de papel Kraft hasta su recepción en el LBNAA-FMV–UNMSM, distrito de San Borja, región Lima. Cabe indicar que la cosecha y transporte fueron en menos de 24 horas para evitar el daño o deterioro por la continuación del metabolismo celular de los forrajes.

3.3 Preparación de las muestras

3.3.1 Etapa 1: Selección de forrajes

Se seleccionaron forrajes y variedades de mayor demanda pecuaria.

Metodología:

- i. Se seleccionaron dos especies forrajeras (leguminosas).
- ii. Se eligieron dos variedades de ALF: SW 8210 y WL 625Hq.
- iii. Se eligieron dos variedades de TR: Kendland y Quiñequeli.

3.3.2 Etapa 2: Obtención de las muestras

Se obtuvieron muestras de las especies vegetales seleccionadas.

Metodología:

- i. En total se obtuvieron 75 muestras de las dos variedades de ALF y 75 muestras de las dos variedades de TR, con corte a 5 cm del suelo para evitar contaminación con tierra.
- ii. Se identificaron las muestras y se almacenaron en bolsas de papel kraft.
- iii. Las edades de corte de las muestras son 3, 6, 9, 12 y 15 semanas.
- iv. Luego fueron llevadas a estufa convencional entre 55°C - 60°C durante 72 horas al LBNAA - FMV – UNMSM hasta obtener pesos constantes.
- v. Posteriormente fueron molidas (molino Thomas WileyTM, tipo Cyclone).

- vi. Se realizó la molienda en malla de 1 mm (Garrido *et al.*, 2000).
- vii. Se determino el %MS.

3.3.3 Etapa 3: Análisis de Weende y protocolo Van Soest.

Se realizaron en el LBNA-FMV-UNMSM, según el protocolo de la AOAC (AOAC, 1990 ; Arbaiza, 2007).

Metodología: Se realizaron los análisis de Weende para PC, EE, CZ, FC y Van Soest para FDN, los resultados se reportaron en %MS.

i. PC (AOAC 976.05)

Se basa en la conversión del nitrógeno de las sustancias nitrogenadas en amonio, hirviéndolas en ácido sulfúrico concentrado. El material orgánico se oxida a dióxido/carbónico y agua, el ácido sulfúrico se convierte en dióxido sulfúrico y el nitrógeno se fija bajo la forma de sulfato de amonio. La cantidad de sulfato de amonio se determina agregando un exceso de hidróxido de sodio; el amonio puesto en libertad se recoge por destilación en ácido bórico, con un indicador; el borato de amonio que se forma es titulado con un ácido estandarizado (ácido sulfúrico 0.1 N). Por el método Kjeldahl, se mide la cantidad de nitrógeno total que contiene la muestra y luego se multiplica por el factor 6.25 esto nos da la cantidad de “proteína bruta”.

ii. EE (AOAC 920.39)

El éter se evapora y condensa continuamente y al pasar a través de la muestra se extraen los materiales solubles en el solvente orgánico. El extracto etéreo se recoge en el vaso y cuando se completa el proceso, la “grasa bruta” queda en el vaso el cual se seca y pesa.

iii. CZ (AOAC).

El material se incinera entre 600°C a 700°C para quemar todo el material orgánico, el material inorgánico que no se destruye a esta temperatura constituye las cenizas.

iv. FC (AOAC 978.10).

Una muestra libre de humedad y grasa se somete a dos digestiones, la primera en ácido diluido y otra en álcali diluido. Los residuos orgánicos restantes se recogen en un crisol de filtro. La pérdida de peso después de incinerar la muestra se denomina “fibra cruda”.

v. FDN (protocolo de Van Soest)

En presencia de solución detergente neutra, se disuelven carbohidratos, proteínas, azúcares y lípidos, el residuo está conformado por paredes celulares, lignina, hemicelulosa y celulosa (Van Soest *et al.*, 1991).

3.3.4 Etapas 4: Obtención y registro de los espectros.

Metodología:

- i. De las 75 muestras de cada forraje seleccionado, se consiguieron sus espectros de absorción, mediante escaneo en equipo NIRS en modo reflectancia.
- ii. Cada muestra fue presentada al espectrofotómetro Thermo Antaris II FT-NIR Analyzer; para el manejo de la base de datos de los espectros, se utilizó el Software de TQ Analyst™
- iii. Se registraron los datos como logaritmo (1/R) a 3.87 nm de intervalo. La luz difusa reflejada (R) por la muestra fue registrada en detectores de sulfuro de plomo, amplificada, digitalizada, transformada y enviada a una computadora para su almacenamiento y procesamiento. En simultáneo a la señal digital de luz reflejada, la computadora recibió señal que representa la longitud de onda utilizada, a cada valor de reflectancia almacenada, le corresponde una longitud de onda (Alomar y Fuchslocher, 1997).
- iv. Las bandas de absorción NIRS estarán dentro del rango espectrales de los constituyentes nutricionales de las especies forrajeras y variedades evaluadas se encuentran entre 1100 y 2400 nm (Wehling, 2008).
- v. El espectro representativo o típico estará constituido por valores del conjunto de diferentes longitudes de onda para una muestra.
- vi. La exactitud y reproducibilidad de la evaluación NIRS, depende del uso adecuado y tipo de instrumento usado en la evaluación, características espectrales de la muestra y técnicas analíticas de referencia usadas.

3.3.5 Etapa 5: Calibración de técnica NIRS.

Metodología:

- i. Se seleccionaron 50 espectros de ALF y 50 de TR mediante muestreo aleatorio uniforme.
- ii. Se obtuvieron regresiones de calibración para las variables PC, EE, CZ, FC, y FDN; mediante cuadrados mínimos parciales (Marten *et al.*, 1983), de los 50 espectros del primer punto se contrastaron con los valores de las variables obtenidas por métodos estándar de la AOAC para las especies vegetales y las variedades forrajeras seleccionadas.
- iii. Las ecuaciones de calibración y predicción se obtuvieron mediante Cuadrados Mínimos Parciales entre datos espectrales y resultados del análisis convencional.
- iv. Todas las operaciones de obtención, registro y selección de espectros y obtención y validación de ecuaciones de calibración NIRS se realizaron mediante el programa TQ Analyst TM.
- v. Se usaron cuadrados mínimos parciales (PLS) derivada 1, según Marten *et al* (1983), para el tratamiento matemático de la calibración y se realizó mediante la siguiente ecuación básica (Marten *et al.*, 1983; Vásquez *et al.*, 2004) que está dada por:
$$Y = a_1 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + \dots + b_n X_n$$
Dónde: Y = componente a ser calibrado, $X_1 X_2 \dots X_n$ = variables espectrales independientes, $b_1, b_2, \dots b_n$ = coeficientes de regresión, a = intercepto.
- vi. Se realizaron para establecer la exactitud de los valores obtenidos y su verificación, análisis de regresión mediante método químico de referencia para los componentes PC, EE, CZ, FC y FDN, contrastando con las ecuaciones brindadas por NIRS.
- vii. Se determinaron mediante estadística descriptiva: promedio, desviación estándar, valor máximo, valor mínimo, rango, coeficiente de variación, así como los indicadores y parámetros químicos nutricionales de los forrajes.
- viii. Se utilizaron los siguientes parámetros de exactitud para evaluar la calibración y estimar la capacidad predictiva real.
 - a. [R]: Coeficiente de correlación
 - b. $[R^2, Ec.1]$: Coeficiente de determinación

- c. [RMSEC, Ec.2]: Raíz cuadrada media del error de predicción en calibración para el conjunto de calibración
- d. [RMSEP, Ec.3]: Raíz cuadrada media del error de predicción en validación para el conjunto de validación
- e. [RPD, Ec.4]: Relación entre la desviación estándar del método químico de referencia y el error de predicción encontrado en el modelo NIRS
- f. [RER, Ec.5] Proporción de rango de datos con el error de predicción (Cozzolino, 2002; Magwaza *et al.*, 2016).

$$\begin{aligned}
 (1) R^2 &= 1 - \frac{\sum (Y_{cal} - Y_{mean})^2}{\sum (Y_{cal} - Y_{act})^2} \\
 (2) RMSEC &= \sqrt{\sum (Y_{cal} - Y_{act})^2 / n} \\
 (3) RMSEP &= \sqrt{\sum (Y_{pred} - Y_{act})^2 / n} \\
 (4) RPD &= SD / RMSEP \\
 (5) RER &= \text{rango} / RMSEP
 \end{aligned}$$

Dónde: n = número espectros, Y_{act} = valor actual, Y_{mean} = valor promedio, Y_{cal} = valor calculado, Y_{pred} = valor de predicción del atributo, SD = desviación estándar de los valores referenciales.

- ix. Las ecuaciones de calibración fueron seleccionadas sobre la base de minimizar el error estándar de la calibración (SEC). El error estándar de la calibración fue calculado por el programa mediante la fórmula:

$$SEC/V: [(Quim - NIRS)^2 / (n - t - 1)]^{1/2}$$

Quim: valor del método de referencia, NIRS: valor de predicción NIRS, n: número de muestras en la calibración, t: número de términos del modelo de calibración (Shenk y Westerhaus, 1993).

3.3.6 Etapas 6: Validación de técnica NIRS

Metodología:

- i. Se usaron los restantes 25 espectros por forraje seleccionado y se realizaron las validaciones de las calibraciones.
- ii. Se obtuvieron los estándares estadísticos de ajuste para la validación: Según Westerhaus (1989), se tomaron los valores de “Error estándar de calibración (SEC), R^2 , Error Estándar De Predicción (SEP). Se usó los valores estándares aceptados: SEC

$\approx 2\text{SEL}$, $R^2 \geq 0.75$)". Para que la validación (predicción) sea considerada buena según Vymazal (2008) y Conzen (2014): "el modelo debe tener alto R y R^2 , bajo RMSEC y RMSEP, y RER superior a 10". Según Chang *et al* (2001) y Esquivel *et al* (2018): "el modelo debe tener alto R y R^2 , bajo RMSEC y RMSEP, y RER superior a 10 y RPD superior a 2.0"

- iii. El error estándar de la validación fue calculado por el programa mediante la misma fórmula anterior indicada en la etapa anterior en el punto 3.3.5 para la calibración.

IV. RESULTADOS

4.1 Análisis químico proximal y evaluación NIRS

Los resultados de las composiciones químicas de las dos especies forrajeras, con sus dos variedades para la calibración y validación externa se presentan a continuación en los Cuadros 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12; observando variación debida al estado fenológico de las especies evaluadas en la presente investigación.

En todos los resultados obtenidos de PC, EE, CZ, FC y FDN se observó variabilidad lo que favoreció la elaboración de las ecuaciones para calibración en NIRS.

Del mismo modo es un aspecto importante para considerar el origen de los forrajes evaluados (IVITA-Mantaro); las condiciones donde está ubicado este centro de investigación influyen significativamente en los componentes nutricionales de estas importantes especies forrajeras de cultivo en el país, haciendo que los valores reportados sean referenciales para la formulación de dietas. La información nutricional que se pueda obtener estará influenciada por el periodo de descanso del suelo, variaciones en la composición del suelo, variedad cultivada, edad de corte, métodos culturales, origen del cultivo, etc.

En el Cuadro 4, se reporta la composición químico proximal y se muestra el análisis estadístico para los componentes PC, EE, CZ, FC y FDN de ALF (*Medicago sativa*), para variación de cada componente de la población empleada para la calibración (n = 50 muestras) y para variación de cada componente de la población para la validación (n = 25 muestras), en

base seca, para las edades evaluadas. Los valores mínimos reportados corresponden a las edades del forraje comprendidas entre 12 y 15 semanas y los valores máximos corresponden a las edades comprendidas entre 6 y 9 semanas de los mismos.

Cuadro 4. Valor mínimo y máximo, rango, promedio, desviación estándar, varianza y coeficiente de variación del set de calibración de alfalfa (n = 50 muestras) y del set de validación (n= 25 muestras), en base seca.

Componente (%)	Calibración									
	PC ¹	PC ²	EE ¹	EE ²	CZ ¹	CZ ²	FC ¹	FC ²	FDN ¹	FDN ²
Mínimo	15.28	15.49	1.50	1.44	7.75	7.96	11.80	11.97	31.50	31.82
Máximo	25.43	25.65	2.78	2.71	12.30	12.92	21.20	18.09	39.37	39.80
Rango	10.15	10.16	1.28	1.27	4.55	4.96	9.40	6.12	7.87	7.98
Promedio	20.04	20.04	2.27	2.27	10.32	10.32	15.14	15.14	35.68	35.68
Desviación estándar	3.42	3.37	0.29	0.26	1.34	1.23	2.18	1.71	2.60	2.57
Varianza	11.69	11.36	0.08	0.07	1.79	1.50	4.76	2.93	6.75	6.59
Coeficiente de variación	0.17	0.17	0.13	0.12	0.13	0.12	0.14	0.11	0.07	0.07
	Validación									
	PC ¹	PC ²	EE ¹	EE ²	CZ ¹	CZ ²	FC ¹	FC ²	FDN ¹	FDN ²
Mínimo	15.32	15.44	1.90	2.01	8.12	8.69	11.08	12.33	32.20	31.98
Máximo	25.39	24.97	2.58	2.51	12.28	12.98	20.52	17.44	39.00	38.44
Rango	10.07	9.53	0.68	0.50	4.16	4.29	9.44	5.11	6.80	6.46
Promedio	20.30	20.14	2.27	2.30	10.10	10.41	15.18	15.44	36.03	36.15
Desviación estándar	2.98	2.76	0.18	0.16	1.39	1.26	2.25	1.46	1.97	1.76
Varianza	8.89	7.62	0.03	0.02	1.93	1.60	5.06	2.12	3.86	3.09
Coeficiente de variación	0.15	0.14	0.08	0.07	0.14	0.12	0.15	0.09	0.05	0.05

PC: proteína cruda, EE: extracto etéreo, CZ: cenizas totales, FC: fibra cruda, FDN: fibra detergente neutra.

¹Valor calculado de la referencia (LBNA).A).

²Valor calculado de la predicción (NIRS).

En el Cuadro 5 se muestran los estadísticos determinados por las mejores ecuaciones de calibración y validación externa de las muestras para los componentes PC, EE, CZ, FC y FDN y los estadísticos R, R², RMSEC y RMSEP.

Cuadro 5. Estadísticos descriptivos de calibración y validación de las ecuaciones obtenidas para la determinación de análisis químico proximal y FDN de Alfalfa (*Medicago sativa*)

Constituyente	Calibración				Validación			
	N ₁	R ₁	R ₁ ²	RMSEC	N ₂	R ₂	R ₂ ²	RMSEP
Proteína cruda	50	0.98	0.96	0.57	25	0.95	0.90	0.86
Extracto etéreo	50	0.91	0.83	0.12	25	0.86	0.74	0.09
Cenizas totales	50	0.91	0.83	0.53	25	0.87	0.76	0.72
Fibra cruda	50	0.78	0.61	1.34	25	0.82	0.67	1.33
Fibra detergente neutra	50	0.99	0.98	0.39	25	0.93	0.86	0.70

N₁: número de muestras calibradas, N₂: número de muestras validadas, R₁: Coeficiente de correlación para calibración, R₂: coeficiente de correlación para validación, R₁²: Coeficiente de determinación para calibración, R₂²: Coeficiente de determinación para validación, RMSEC: raíz cuadrada media del error de calibración, RMSEP: Raíz cuadrada media del error de predicción

En el Cuadro 6 se presentan los resultados de RPD (desviación residual predictiva) superiores a 2.0 en los constituyentes PC, EE y FDN, obteniéndose el mayor valor para PC (3.46), seguido de FDN (2.81). Los resultados obtenidos para RER (*Range Error Ratio*) son superiores a 10 para PC.

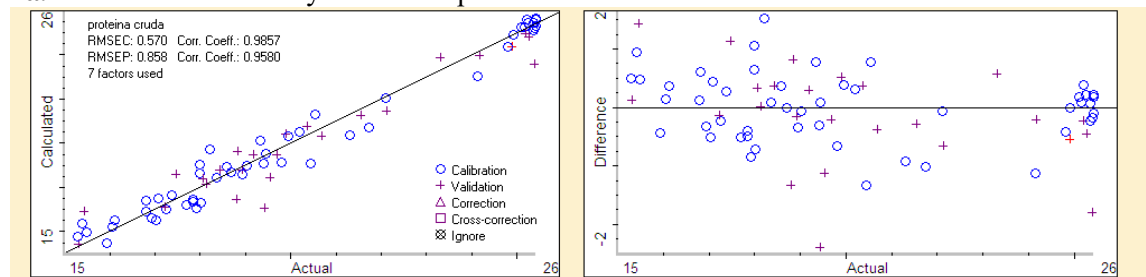
Cuadro 6. Estadísticos estimadores de la calidad de la calibración y validación para análisis proximal y FDN de alfalfa (*Medicago sativa*)

Constituyente	Estadístico		
	TM (a,b,c,)	RER	RPD
Proteína cruda	1,5,5	11.71	3.46
Extracto etéreo	1,5,5	7.55	2.00
Cenizas totales	1,5,5	5.78	1.93
Fibra cruda	1,5,5	7.10	1.69
Fibra detergente neutra	1,5,5	9.86	2.81

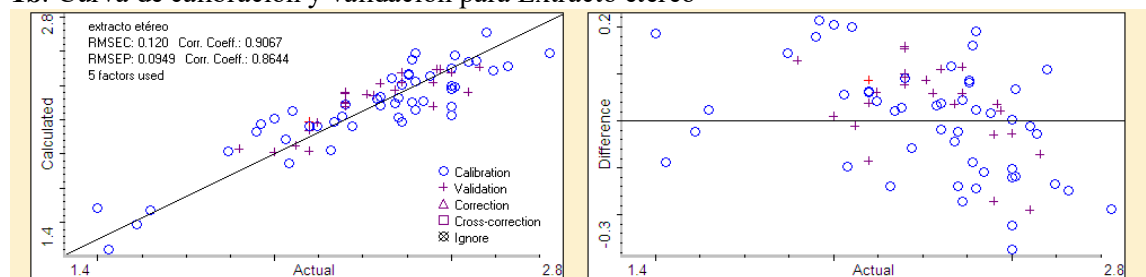
TM: Tratamiento matemático; a: Derivada; b: Gap; c: Smooth. RER: Proporción del rango de datos con el error. RPD: Desviación residual predictiva.

La Figura 1 nos muestra las Curvas de calibración y validación de alfalfa para los componentes PC, EE, CZ, FC y FDN, obtenidas del programa TQ Analyst™. (Anexo 1)

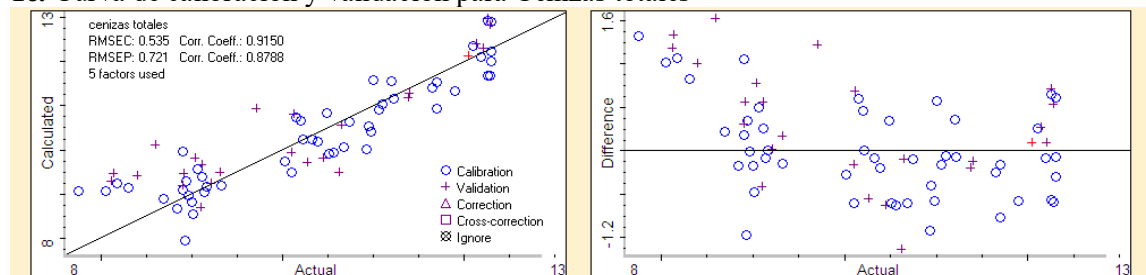
1a. Curva de calibración y validación para Proteína cruda



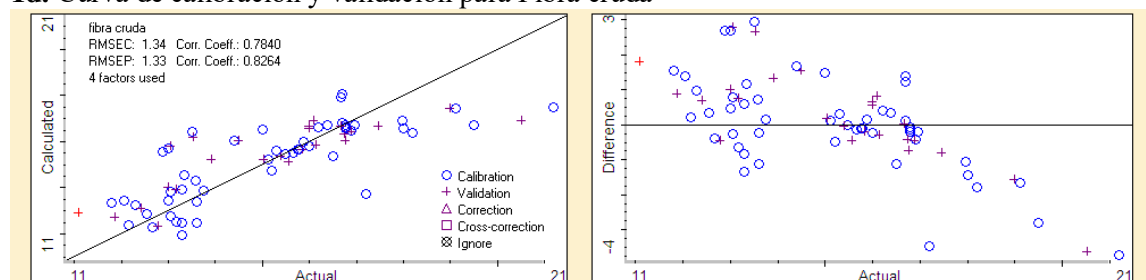
1b. Curva de calibración y validación para Extracto etéreo



1c. Curva de calibración y validación para Cenizas totales



1d. Curva de calibración y validación para Fibra cruda



1e. Curva de calibración y validación para Fibra detergente neutra

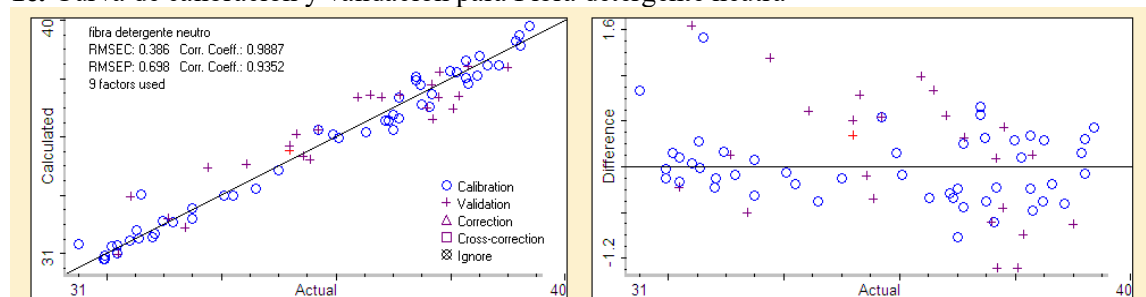


Figura 1. Curvas de calibración y validación obtenidas para componentes PC (1a), EE (1b), CZ (1c), FC (1d) y FDN (1e). Obtenidas del programa TQ Analyst™ (Anexo 1)

La Figura 2 nos muestra los datos espectrales del grupo de muestras utilizadas en la presente investigación para ALF. Estas curvas fueron generadas por el programa TQ Analyst™. (Anexo 2)

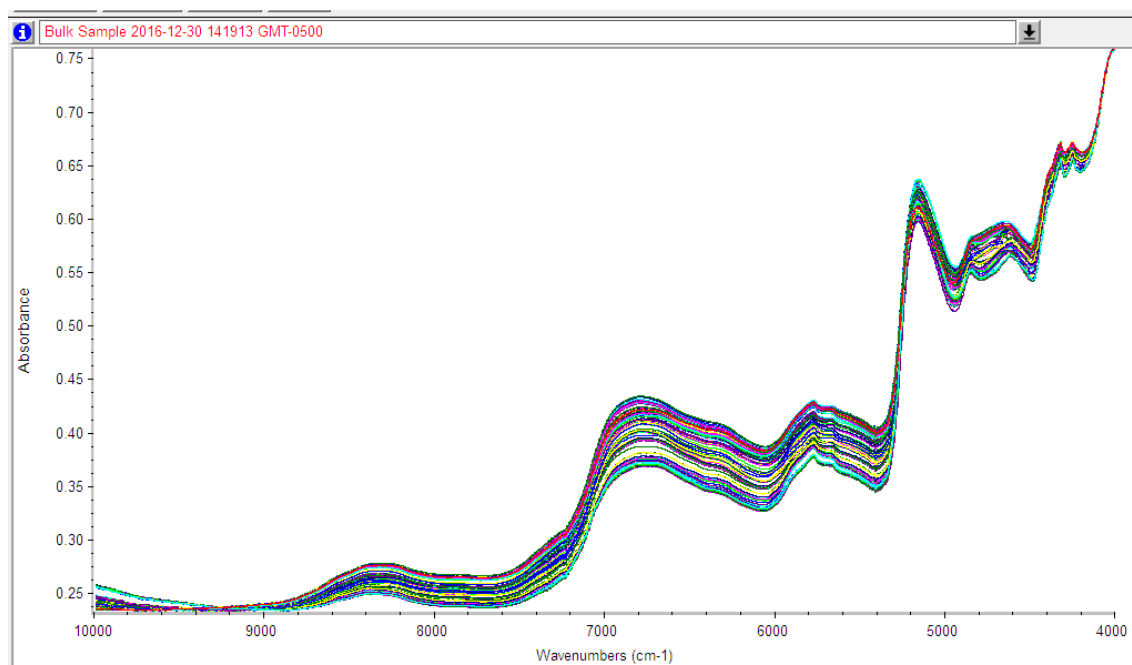


Figura 2. Espectro NIRS en log 1/R y número de ondas de alfalfa (*Medicago sativa*), LBNA–FMV–UNMSM, Lima (Anexo 2)

En el Cuadro 7, se reporta la composición químico proximal y se muestra el análisis estadístico para los componentes PC, EE, CZ, FC y FDN de TR (*Trifolium pratense*), para variación de cada componente de la población para la calibración de NIRS (n = 50 muestras) y para variación de cada componente de la población para la validación del NIRS (n = 25 muestras); en base seca, para las edades evaluadas. Los valores mínimos reportados corresponden a las edades del forraje comprendidas entre 12 y 15 semanas y los valores máximos corresponden a las edades comprendidas entre 6 y 9 semanas de los mismos.

Cuadro 7. Valor mínimo y máximo, rango, promedio, desviación estándar, varianza y coeficiente de variación del set de calibración de trébol rojo (n = 50 muestras) y del set de validación (n= 25 muestras), en base seca.

Componente	Calibración									
	PC ¹	PC ²	EE ¹	EE ²	CZ ¹	CZ ²	FC ¹	FC ²	FDN ¹	FDN ²
Mínimo	16.80	16.27	1.75	1.86	7.75	8.24	11.74	11.92	26.80	26.02
Máximo	28.90	29.14	2.60	2.56	11.00	10.44	13.10	13.02	38.90	39.54
Rango	12.10	12.87	0.85	0.70	3.25	2.20	1.36	1.10	12.10	13.52
Promedio	24.37	24.37	2.11	2.11	8.84	8.84	12.45	12.45	31.34	31.34
Desviación estándar	3.52	3.45	0.17	0.16	0.72	0.61	0.39	0.31	3.66	3.57
Varianza	12.37	11.90	0.03	0.03	0.51	0.37	0.15	0.10	13.42	12.78
Coeficiente de variación	0.14	0.14	0.08	0.08	0.08	0.07	0.03	0.03	0.12	0.11
Componente	Validación									
	PC ¹	PC ²	EE ¹	EE ²	CZ ¹	CZ ²	FC ¹	FC ²	FDN ¹	FDN ²
Mínimo	17.84	18.35	1.90	1.85	7.80	8.24	11.85	11.98	27.10	26.09
Máximo	29.80	29.53	2.40	2.41	10.12	10.40	13.12	13.00	38.05	38.95
Rango	11.96	11.18	0.50	0.56	2.32	2.16	1.27	1.02	10.95	12.86
Promedio	23.68	23.76	2.10	2.10	8.65	8.66	12.47	12.44	32.08	32.24
Desviación estándar	3.08	3.00	0.11	0.11	0.58	0.56	0.41	0.31	3.24	3.56
Varianza	9.49	9.00	0.01	0.01	0.33	0.32	0.17	0.10	10.48	12.65
Coeficiente de variación	0.13	0.13	0.05	0.05	0.07	0.06	0.03	0.03	0.10	0.11

PC: proteína cruda, EE: extracto etéreo, CZ: cenizas totales, FC: fibra cruda, FDN: fibra detergente neutra.

¹Valor calculado de la referencia (LBNA).

²Valor calculado de la predicción (NIRS).

En el Cuadro 8 se muestran los estadísticos determinados por las mejores ecuaciones de calibración y validación externa de las muestras de trébol rojo (*Trifolium pratense*) para los componentes PC, EE, CZ, FC y FDN y los estadísticos R, R², RMSEC y RMSEP.

Cuadro 8. Estadísticos descriptivos de calibración y validación de ecuaciones obtenidas para la determinación del análisis químico proximal y FDN de trébol rojo (*Trifolium pratense*)

Constituyente	Calibración				Validación			
	N ₁	R ₁	R ²	RMSEC	N ₂	R ₂	R ² ₂	RMSEP
Proteína cruda	50	0.98	0.96	0.67	25	0.95	0.90	0.94
Extracto etéreo	50	0.91	0.82	0.07	25	0.86	0.74	0.06
Cenizas totales	50	0.85	0.73	0.37	25	0.85	0.73	0.30
Fibra cruda	50	0.80	0.64	0.24	25	0.80	0.63	0.25
Fibra detergente neutra	50	0.98	0.95	0.80	25	0.95	0.90	1.13

N₁: número de muestras calibradas, N₂: número de muestras validadas, R₁: Coeficiente de correlación para calibración, R₂: coeficiente de correlación para validación, R²₁: Coeficiente de determinación para calibración, R²₂: Coeficiente de determinación para validación, RMSEC: raíz cuadrada media del error de calibración, RMSEP: Raíz cuadrada media del error de predicción

En el Cuadro 9 se presentan los resultados de RPD (*Residual Predictive Deviation*) superiores a 2.0 en los constituyentes PC y FDN, obteniéndose el mayor valor para PC (3.28), seguido de FDN (2.87). Los resultados obtenidos para RER (*Range Error Ratio*) son superiores a 10 para PC (12.72).

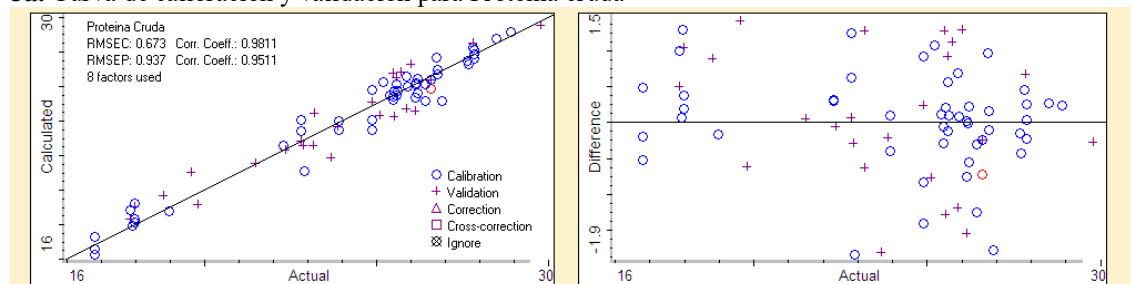
Cuadro 9. Estadísticos estimadores de calidad de calibración para análisis químico proximal y FDN de trébol rojo (*Trifolium pratense*)

Constituyente	Estadístico		
	TM (a,b,c,)	RER	RPD
PC	1,5,5	12.72	3,28
EE	1,5,5	8.33	1.83
CZ	1,5,5	7.73	1.93
FC	1,5,5	5.08	1.64
FDN	1,5,5	9.69	2.87

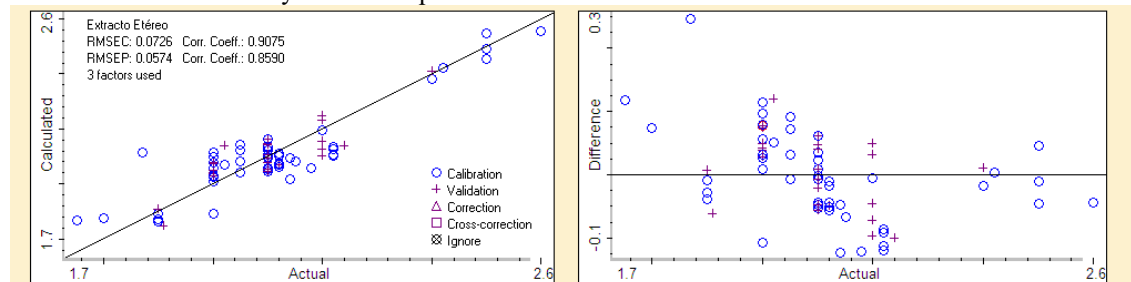
TM: Tratamiento matemático; a: Derivada; b: Gap; c: Smooth.
RER: Proporción de rango de datos con el error. RPD: desviación residual predictiva.

La Figura 3 nos muestra las Curvas de calibración y validación de trébol rojo para los componentes PC, EE, CZ, FC y FDN, obtenidas del programa TQ Analyst™. (Anexo 3)

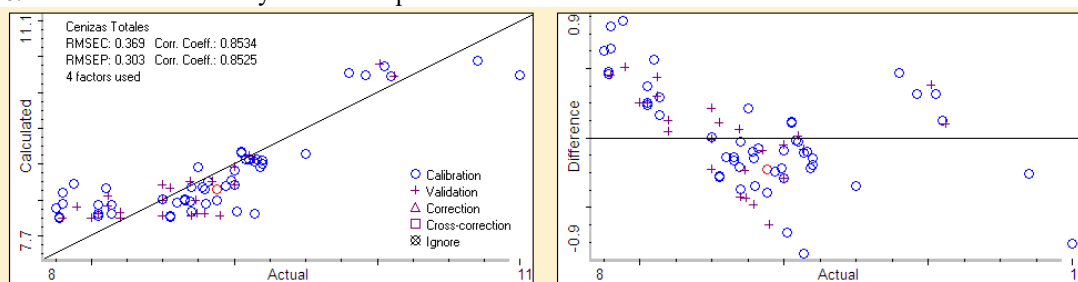
3a. Curva de calibración y validación para Proteína cruda



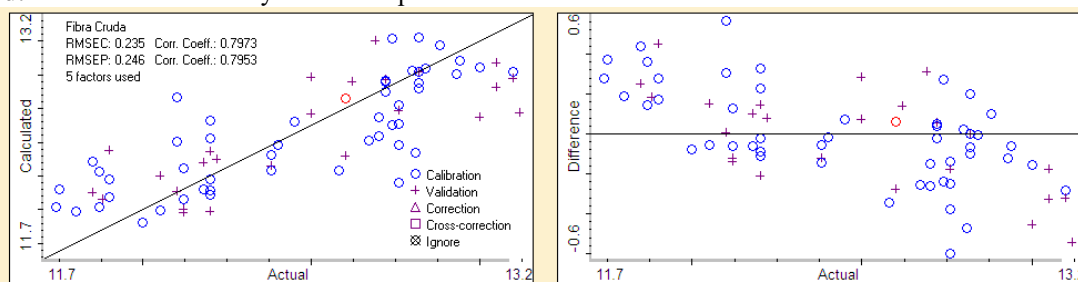
3b. Curva de calibración y validación para Extracto etéreo



3c. Curva de calibración y validación para Cenizas totales



3d. Curva de calibración y validación para Fibra cruda



3e. Curva de calibración y validación para Fibra detergente neutra

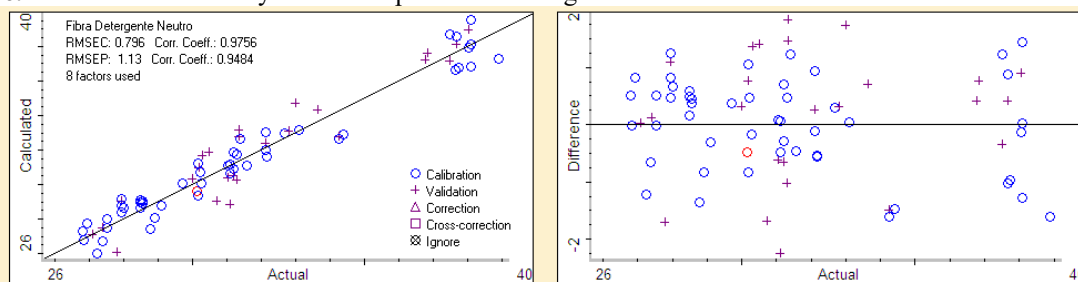


Figura 3. Curvas de calibración y validación obtenidas para componentes PC (4a), EE (4b), CZ (4c), FC (4d) y FDN (4e). Obtenidas del programa TQ Analyst TM (Anexo 3).

La Figura 4 nos muestra los datos espectrales del grupo de muestras utilizadas en la presente investigación para TR. Estas curvas fueron generadas por el programa TQ Analyst TM. (Anexo 4)

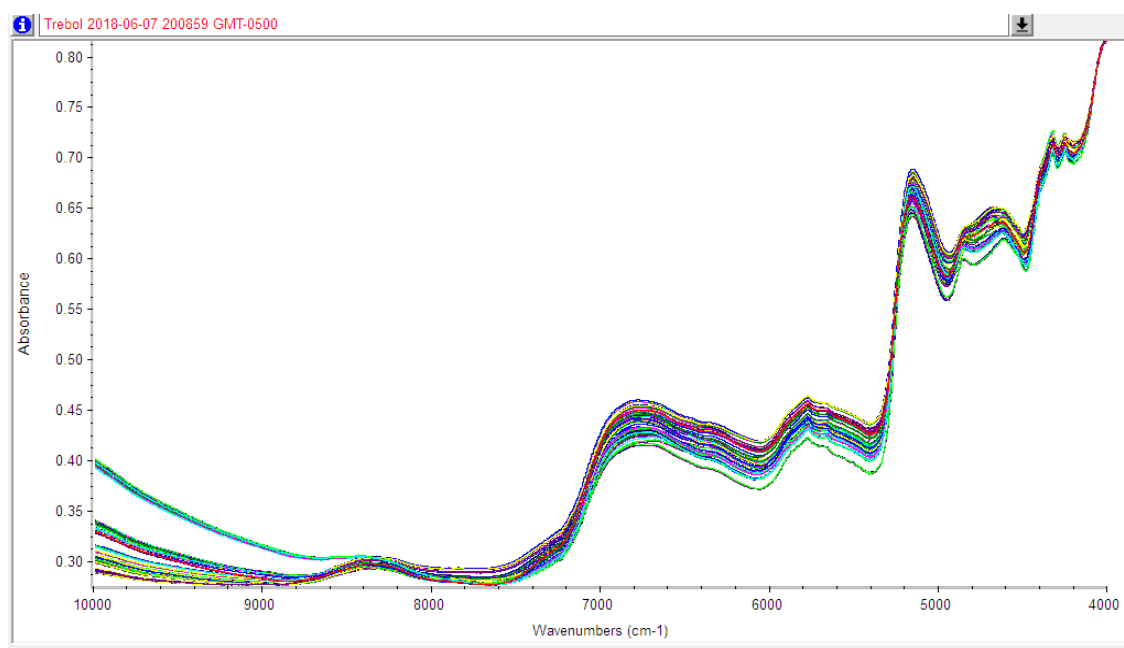


Figura 4. Espectro NIRS en Log1/R y número de ondas de trébol rojo (*Trifolium pratense*). LBNA–FMV–UNMSM, Lima (Anexo 4)

En el Cuadro 10, se reporta la composición químico proximal y se muestra el análisis estadístico para los componentes PC, EE, CZ, FC y FDN de ALF (*Medicago sativa*) y TR (*Trifolium pratense*), para variación de cada componente de la población empleada para la calibración ($n = 100$ muestras) y para variación de cada componente de la población para la validación ($n = 50$ muestras); en base seca, para las edades evaluadas. Los valores mínimos reportados corresponden a las edades del forraje comprendidas entre 12 y 15 semanas y los valores máximos corresponden a las edades comprendidas entre 6 y 9 semanas de los mismos.

Cuadro 10. Valor mínimo y máximo, rango, promedio, desviación estándar, varianza y coeficiente de variación del set de calibración de alfalfa-trébol rojo ($n=100$ muestras) y del set de validación ($n = 50$ muestras), en base seca.

Componente	Calibración									
	PC ¹	PC ²	EE ¹	EE ²	CZ ¹	CZ ²	FC ¹	FC ²	FDN ¹	FDN ²
Mínimo	15.28	15.45	1.50	1.52	7.75	7.68	11.74	11.26	26.80	26.74
Máximo	28.90	28.90	2.78	2.74	12.30	12.48	21.20	20.58	39.37	39.80
Rango	13.62	13.45	1.28	1.22	4.55	4.80	9.46	9.32	12.57	13.33
Promedio	22.20	22.20	2.19	2.19	9.58	9.58	13.79	13.79	33.52	33.52
Desviación estándar	4.08	4.03	0.25	0.25	1.30	1.30	2.06	1.98	3.84	3.72
Varianza	16.65	16.22	0.06	0.06	1.70	1.68	4.26	3.93	14.73	13.87
Coeficiente de variación	0.18	0.18	0.11	0.11	0.14	0.14	0.15	0.14	0.11	0.11

	Validación									
Mínimo	15.32	15.01	1.90	1.80	7.80	7.67	11.08	10.46	27.10	26.68
Máximo	29.80	28.26	2.58	2.58	12.28	12.68	20.52	18.21	39.00	40.11
Rango	14.48	13.25	0.68	0.78	4.48	5.01	9.44	7.75	11.90	13.43
Promedio	21.99	22.36	2.18	2.21	9.37	9.53	13.82	13.86	34.04	33.70
Desviación estándar	3.45	3.18	0.17	0.16	1.28	1.25	2.10	1.78	3.32	3.18
Varianza	11.93	10.13	0.03	0.03	1.64	1.56	4.43	3.16	11.02	10.09
Coefficiente de variación	0.16	0.14	0.08	0.07	0.14	0.13	0.15	0.13	0.10	0.09

PC: proteína cruda, EE: extracto etéreo, CZ: cenizas totales, FC: fibra cruda, FDN: fibra detergente neutra.

¹Valor calculado de la referencia (LBNA).

²Valor calculado de la predicción (NIRS).

En el Cuadro 11 se muestran los estadísticos determinados para las mejores ecuaciones de calibración y validación externa de las muestras de ALF (*Medicago sativa*) y TR (*Trifolium pratense*) para los componentes PC, EE, CZ, FC y FDN y los estadísticos R, R², RMSEC y RMSEP.

Cuadro 11. Estadísticos descriptivos de calibración y validación de ecuaciones obtenidas para la determinación del análisis químico proximal y FDN de ALF (*Medicago sativa*) y de trébol rojo (*Trifolium pratense*)

Constituyente	Calibración				Validación			
	N ₁	R ₁	R ²	RMSEC	N ₂	R ₂	R ² ₂	RMSEP
Proteína cruda	100	0.99	0.97	0.66	50	0.86	0.74	1.82
Extracto etéreo	100	0.99	0.98	0.04	50	0.49	0.24	0.17
Cenizas totales	100	0.99	0.99	0.13	50	0.90	0.80	0.59
Fibra cruda	100	0.96	0.92	0.57	50	0.82	0.67	1.19
Fibra detergente neutra	100	0.97	0.94	0.92	50	0.85	0.73	1.79

N₁: número de muestras calibradas, N₂: número de muestras validadas, R₁: Coeficiente de correlación para calibración, R₂: coeficiente de correlación para validación, R²₁: Coeficiente de determinación para calibración, R²₂: Coeficiente de determinación para validación, RMSEC: raíz cuadrada media del error de calibración, RMSEP: Raíz cuadrada media del error de predicción

En el Cuadro 12 se presentan los resultados de la desviación residual predictiva (RPD) de ALF (*Medicago sativa*) y de TR (*Trifolium pratense*), en los constituyentes PC, EE, CZ, FC y FDN, obteniéndose valores ≥ 2 para PC, CZ y FDN.

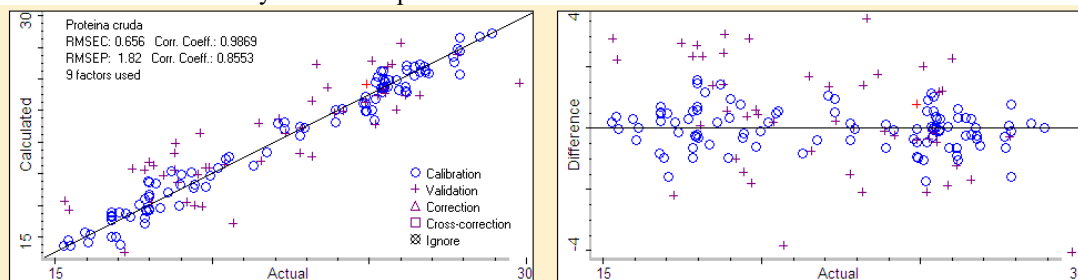
Cuadro 12. Estadísticos estimadores de calidad de calibración para análisis químico proximal de ALF (*Medicago sativa*) y de TR (*Trifolium pratense*)

Constituyente	Estadístico		
	TM (a,b,c,)	RER	RPD
PC	1,5,5	7,95	2.00
EE	1,5,5	4.00	1.00
CZ	1,5,5	7.59	2.17
FC	1,5,5	7.93	1.76
FDN	1,5,5	6.65	2.00

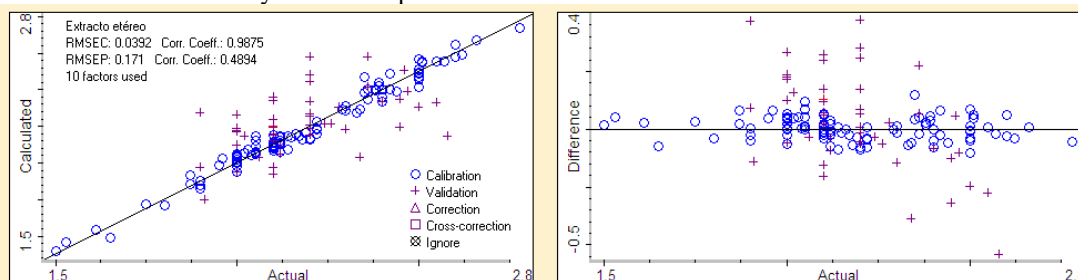
TM: Tratamiento matemático; a: Derivada; b: Gap; c: Smooth. RER: Proporción de rango de datos con el error. RPD: desviación residual predictiva.

La Figura 5 nos muestra las Curvas de calibración y validación de alfalfa y trébol rojo para los componentes PC, EE, CZ, FC y FDN, obtenidas del programa TQ Analyst™. (Anexo 5)

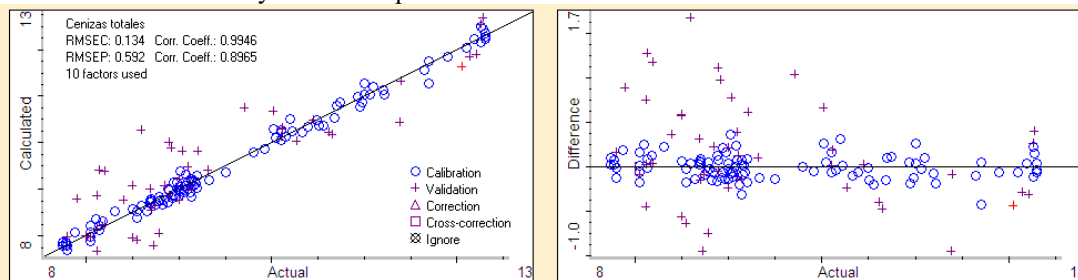
5a. Curva de calibración y validación para Proteína cruda



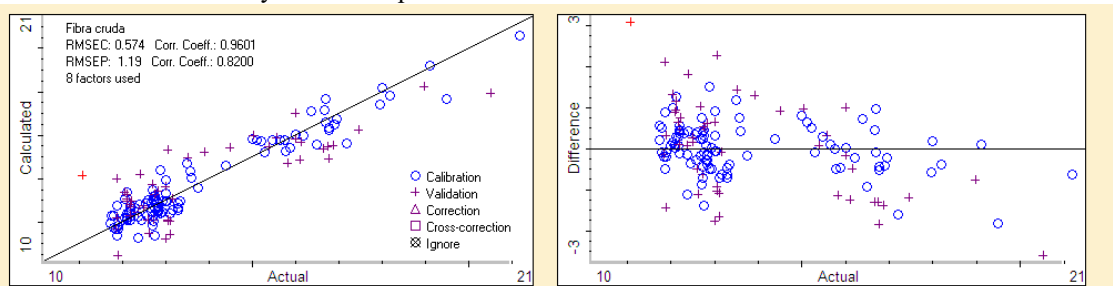
5b. Curva de calibración y validación para Extracto etéreo



5c. Curva de calibración y validación para Cenizas totales



5d. Curva de calibración y validación para Fibra cruda



5e. Curva de calibración y validación para Fibra detergente neutra

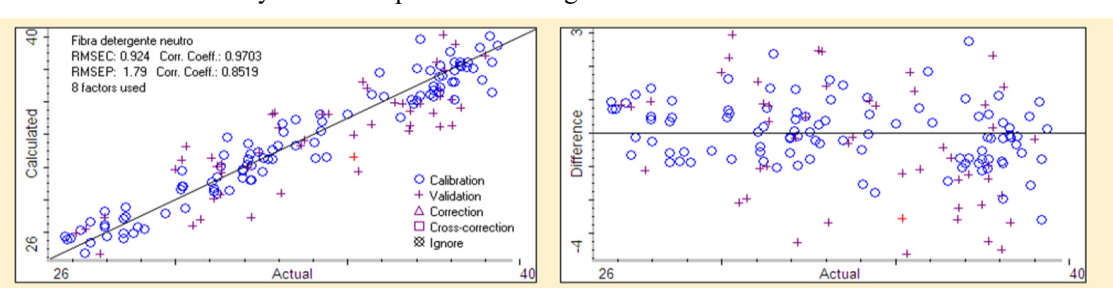


Figura 5. Curvas de calibración y validación obtenidas para componentes PC (5a), EE (5b), CZ (5c), FC (5d) y FDN (5e). Obtenidas del programa TQ Analyst™ (Anexo 5)

En la figura 6 se aprecia los espectros NIRS en Log1/R de alfalfa (*Medicago sativa*) y trébol (*Trifolium pratense*), al evaluar datos espectrales en simultáneo, demuestra una gran similitud, dada por la pertenencia de estas dos especies forrajeras a la misma familia de las leguminosas. Siendo los datos que generaron estas curvas reportados por NIRS, ambas unificadas, uniformizadas y obtenidas por el programa TQ Analyst™ (Anexo 6).

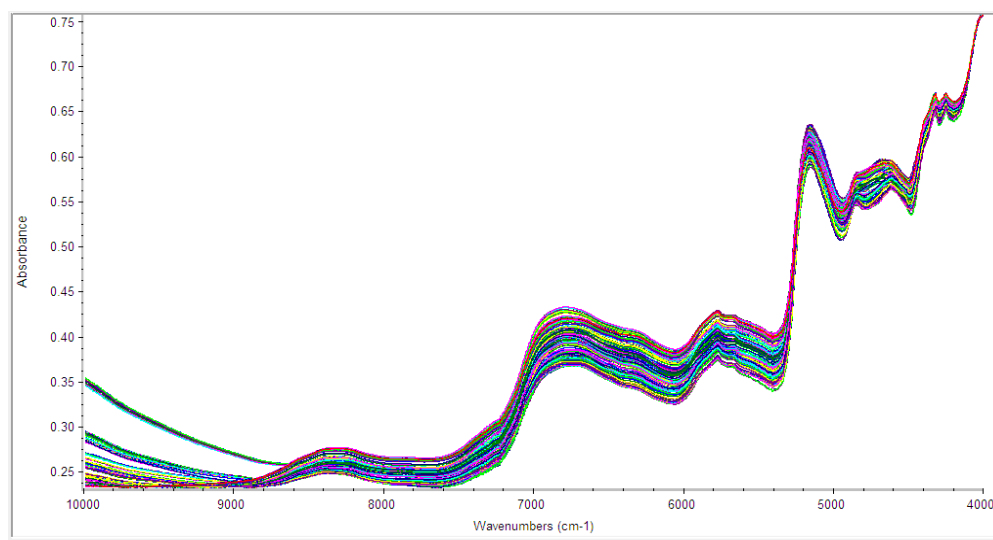


Figura 6. Espectros NIRS en Log1/R y número de ondas de alfalfa (*Medicago sativa*) (n=75 muestras) y trébol (*Trifolium pratense*) (n=75 muestras), LBNAA-FMV-UNMSM, Lima. Obtenidas por el programa TQ Analyst™ (Anexo 6)

El programa TQ Analyst™ analiza los nutrientes y datos consignados de cada espectro para identificar y sugerir regiones espectrales con las cuales correlacionar la concentración de los componentes. En el Cuadro 13, se muestra las regiones empleadas para alfalfa, rango de espectro, data spacing y distancia (cm^{-1}) encontrada para cada nutriente evaluado.

Cuadro 13. Regiones del espectro utilizadas y distancia para cada nutriente evaluado de alfalfa (*Medicago sativa*)

Nutriente	Index Región	Región espectral	Data spacing	Distancia (cm^{-1})
Proteína cruda (PC)	2	3999.64	3.86	6387.08 - 6055.39
	3	10001.028		9977.89 - 6564.50
Extracto etéreo (EE)	1	3999.64	3.86	58.3168 - 5688.98
	3	10001.028		9977.89 - 6564.50
Cenizas totales (CZ)	1	3999.64	3.86	58.3168 - 5688.98
	2	10001.028		6387.08 - 6055.39
	3			9977.89 - 6564.50
Fibra cruda (FC)	1	3999.64	3.86	58.3168 - 5688.98
	2	10001.028		6387.08 - 6055.39
	3			9977.89 - 6564.50
Fibra detergente neutra	1	3999.64	3.86	58.3168 - 5688.98
	2	10001.028		6387.08 - 6055.39
	3			9977.89 - 6564.50

En el Cuadro 14, se muestra las regiones empleadas para trébol rojo, el rango de espectro, data spacing y la distancia (cm^{-1}) encontrado para cada nutriente evaluado. Se observa que para PC las mejores regiones reportadas son la 2 y la 3, para EE las regiones 1 y 3 y para el resto de nutrientes se emplearon las tres regiones.

Cuadro 14. Regiones del espectro utilizadas y distancia para cada nutriente evaluado de trébol rojo (*Trifolium pratense*)

Nutriente	Index Región	Región espectral	Data spacing	Distancia (cm^{-1})
Proteína cruda (PC)	2	3999.64	3.86	5361.14 - 4464.81
	3	10001.028		7243.32 - 6784.35
Extracto etéreo (EE)	1	3999.64	3.86	4288.91 - 4042.07
	3	10001.028		7243.32 - 6784.35
Cenizas totales (CZ)	1	3999.64	3.86	4288.91 - 4042.07
	2	10001.028		5361.14 - 4464.81
	3			7243.32 - 6784.35
Fibra cruda (FC)	1	3999.64	3.86	4288.91 - 4042.07
	2	10001.028		5361.14 - 4464.81
	3			7243.32 - 6784.35
Fibra detergente neutra	1	3999.64	3.86	4288.91 - 4042.07
	2	10001.028		5361.14 - 4464.81
	3			7243.32 - 6784.35

En el Cuadro 15, se muestra las regiones empleadas para ambas especies en conjunto alfalfa y trébol rojo, el rango de espectro, data spacing, y la distancia (cm⁻¹) encontrado para cada nutriente evaluado. Se observa que para todos los nutrientes se emplearon dos regiones.

Cuadro 15. Regiones del espectro utilizadas y distancia para cada nutriente evaluado para alfalfa (*Medicago sativa*) y trébol rojo (*Trifolium pratense*), análisis simultáneo.

Nutriente	Index Región	Región espectral	Data spacing	Distancia (cm ⁻¹)
Proteína cruda	1	3999.64	3.86	9893 - 5893.39
	2	10001.028		5874.11 - 4092.21
Extracto etéreo	1	3999.64	3.86	9893 - 5893.39
	2	10001.028		5874.11 - 4092.21
Cenizas	1	3999.64	3.86	9893 - 5893.39
	2	10001.028		5874.11 - 4092.21
Fibra cruda	1	3999.64	3.86	9893 - 5893.39
	2	10001.028		5874.11 - 4092.21
Fibra detergente neutra	1	3999.64	3.86	9893 - 5893.39
	2	10001.028		5874.11 - 4092.21

En el Cuadro 16 se muestra la distribución de las especies alfalfa (*Medicago sativa*) y trébol rojo (*Trébol rojo*) y sus variedades evaluadas por semanas de corte utilizadas tanto para calibración como para la validación NIRS.

Cuadro 16. Distribución de variedades por semana de corte utilizadas para calibración y validación NIRS, de las especies alfalfa (*Medicago sativa*) y trébol rojo (*Trébol rojo*)

Set	Especie	Variedad	N° de muestras por semana de corte					n°
			3 ^{era}	6 ^{ta}	9 ^{na}	12 ^{ava}	15 ^{ava}	
Calibración	Alfalfa	SW 8210	8	7	4	3	5	50
		WL 625Hq	5	4	5	5	4	
	Trébol rojo	Quiñequeli	6	6	5	6	5	50
		Kendland	6	4	4	4	4	
							Total	100
Validación	Alfalfa	SW 8210	2	3	2	5	2	25
		WL 625Hq	2	2	2	3	2	
	Trébol rojo	Quiñequeli	2	2	3	2	3	25
		Kendland	1	3	4	3	2	
							Total	50

V. DISCUSION

En los resultados y valores obtenidos para los componentes de PC, EE, CZ, FC y FDN para alfalfa, trébol rojo y alfalfa - trébol rojo en evaluación simultánea, se observan rangos de variabilidad amplios, tanto en valores actuales (LBNA) como los valores calculados (NIRS). Estos datos reflejan la variación propia en el contenido de nutrientes según el estado fenológico y edad de corte de estas especies forrajeras en el presente estudio y lo cual favoreció el desarrollo de las ecuaciones para calibración en NIRS para el presente trabajo de investigación.

En el Cuadro 4, los resultados obtenidos en PC para alfalfa se observaron valores mínimos para calibración: actual 15.28% y calculada 15.49%; para validación: actual 15.32% y calculada 15.44%; también se observaron valores máximos para calibración: actual 25.43% y calculada 25.65%; para validación: actual 25.39% y calculada 24.97%, siendo estos últimos valores tanto para calibración y validación, superiores a los valores reportados por Fernández (2002): 15,3%, FEDNA (2014): 22.7% y Bojórquez *et al.* (2015): 22.86%, probablemente debido a la variedad de alfalfa utilizada y por la edad de corte de la misma, la cual no se especifica en estos trabajos. En los resultados obtenidos en FC para alfalfa se observaron valores mínimos para calibración: actual 11.80% y calculada 11.97%; para validación: actual 11.08% y calculada 12.33%; también se observaron valores máximos para calibración: actual 21.20% y calculada 18.09% y para validación: actual 20.52% y calculada 17.44%, siendo estos últimos valores tanto para calibración y validación, menores a los valores reportados por Fernández (2002) y FEDNA (2014) para el mismo componente. Los resultados obtenidos en FDN para alfalfa se observaron valores mínimos para calibración: actual 31.50% y calculada 31.82%; para validación: 32.20% y calculada 31.98%; también se observaron valores máximos para calibración: actual 39.37% y calculada 39.80% y para validación: actual 39.00% y calculada 38.44%, siendo estos últimos valores tanto para calibración y validación,

actuales y calculados superiores a los valores reportados por Bojórquez *et al.* (2015) y Fernández (2002) para el mismo componente. En el Cuadro 7, los resultados obtenidos en PC para trébol rojo se observaron valores mínimos para calibración: actual 16.80% y calculada 16.27%; para validación: actual 17.84% y calculada 18.35%; también se observaron valores máximos para calibración: actual 28.90% y calculada 29.14%; para validación: actual 29.80% y calculada 29.53%, siendo estos últimos valores tanto para calibración y validación, actuales y calculados superiores a los valores reportados por Fernández (2002), FEDNA (2014) y Bojórquez *et al.* (2015). Los resultados obtenidos en este parámetro: fibra cruda (FC) para trébol rojo se observaron valores mínimos para calibración: actual 11.74% y calculada 11.92%; para validación: 11.85% y calculada: 11.98%; también se observaron valores máximos para calibración: actual 13.10% y calculada 13.02% y para validación: actual 13.12% y calculada 13.00%, siendo estos últimos valores tanto para calibración y validación, actuales y calculados superiores a los valores reportados por y Fernández (2002) y FEDNA (2014) para el mismo componente. Los resultados obtenidos en el componente de FDN para trébol rojo se observaron valores mínimos para calibración: actual 26.80% y calculada 26.02%; para validación: 27.10% y calculada 26.09%; también se observaron valores máximos para calibración: actual 38.90% y calculada 39.54% y para validación: actual 38.05% y calculada 38.95%, siendo estos últimos valores tanto para calibración y validación, actuales y calculados superiores a los valores reportados por Bojórquez *et al.* (2015) y Fernández (2002) para el mismo componente. En el Cuadro 10, los resultados obtenidos en el componente de PC para alfalfa y trébol en evaluación simultanea se observaron valores mínimos para calibración: actual 15.28% y calculada 15.45%; para validación: actual 15.32% y calculada 28.90%; también se observaron valores máximos para calibración: actual 28.90% y calculada 28.90%; para validación: actual 29.80% y calculada 28.26%, siendo estos últimos valores tanto para calibración y validación, actuales y calculados superiores a los valores reportados por Bojórquez *et al.* (2015), FEDNA (2014) y Fernández (2002). Los resultados obtenidos en el componente de FC para alfalfa y trébol en evaluación simultanea se observaron valores mínimos para calibración: actual 11.74% y calculada 11.26%; para validación: 11.08% y calculada 10.46%; también se observaron valores máximos para calibración: actual 21.20% y calculada 20.58% y para validación: actual 20.52% y calculada 18.21%, siendo estos últimos valores tanto para calibración y validación, actuales y calculados superiores a los valores reportados por Fernández (2002) y FEDNA (2014) y para el mismo componente. Los resultados obtenidos en el componente de FDN para alfalfa y trébol en evaluación simultanea se observaron valores mínimos para calibración: actual 26.80% y calculada 26.74%; para validación: 27.10% y calculada 26.68%; también se observaron valores máximos para calibración: actual 39.37% y calculada 39.80% y para validación: actual

39.00% y calculada 40.11%, siendo estos últimos valores tanto para calibración y validación, actuales y calculados superiores a los valores reportados por Fernández (2002) y Bojórquez *et al.* (2015) para el mismo componente.

Para los estadísticos de validación y calibración tanto para alfalfa, trébol rojo y alfalfa - trébol rojo en evaluación simultánea, R y R^2 se tuvieron en cuenta lo propuesto por Shenk and Westerhaus (1993) y Andrés *et al.* (2005), quienes señalan que para valores comprendidos en el rango 0.95 a más en R y 0.90 en R^2 la calibración es buena o eficaz, 0.84 – 0.94 para R y 0.70 - 0.89 para R^2 la calibración es regular y de menores a 0.83 para R y 0.50 - 0.69 para R^2 la calibración es ineficaz. En el Cuadro 5, los resultados de calibración obtenidos para alfalfa muestran para R y R^2 valores eficaces o buenos para PC y FDN; regulares para EE y CZ e ineficaz para FC en los colectivos evaluados; así mismo en los colectivos para validación obtenidos para alfalfa se muestran para R y R^2 valores eficaces o buenos para PC y FDN, regulares para EE y CZ, e ineficaz para FC; en el Cuadro 8 los resultados de calibración obtenidos para trébol rojo muestran para R y R^2 eficaces o buenos para PC y FDN; regulares para EE y CZ e ineficaces para FC en los colectivos evaluados; así mismo en los colectivos para validación obtenidos para trébol rojo se muestran para R y R^2 valores eficaces o buenos para PC y FDN, regulares para EE y CZ, e ineficaz para FC; en el Cuadro 11 los resultados de calibración obtenidos para la evaluación simultanea de alfalfa y trébol rojo muestran para R y R^2 eficaces o buenos para todos los constituyentes, menos para FC; así mismo en los colectivos para validación obtenidos para la evaluación en simultaneo de alfalfa y trébol rojo se muestran para R y R^2 valores regulares para PC, CZ y FDN e ineficaz para EE y FC; Cozzolino (2002), estudiando muestras de insumos pecuarios y su uso en el diseño de raciones alimenticias para animales, a través del uso de la evaluación NIRS, obtuvo resultados de R^2 en PC de 0.98; en FC de 0.93 y en CZ de 0.92; mientras Keim *et al.* (2015) obtuvo resultados para R^2 en PC de 0.99 y en FDN de 0.95 en su estudio de evaluación de estos componentes sobre pasturas incubadas en rumen.

Así mismo en el Cuadro 5, los valores de RMSEC y RMSEP para todos los componentes de alfalfa fueron bajos, con excepción del componente FC, y se observaron los valores para los componentes de EE (0.12), FDN (0.39) y CZ (0.53) en RMSEC y los valores para EE (0.09), FDN (0.70) y CZ (0.72) en RMSEP; en el cuadro 8 los valores de RMSEC y RMSEP para todos los componentes de trébol rojo fueron bajos, se obtuvieron y observaron los valores para los componentes de EE (0.07), FC (0.24) y CZ (0.37) en RMSEC y los

valores para EE (0.06), FC (0.25) y CZ (0.30) en RMSEP; en el Cuadro 11 los valores de RMSEC y RMSEP para todos los componentes de la evaluación de alfalfa y trébol rojo en simultaneo fueron bajos, se obtuvieron y observaron los valores para los componentes de EE (0.04), CZ (0.13) y FC (0.57) en RMSEC y los valores para EE (0.17), FC (0.25) y CZ (0.59) en RMSEP; Asekova *et al.* (2016) reportaron valores de 0.61 y 0.39 de RMSEC para PC y EE, respectivamente, en granos de soya. Magwaza *et al.* (2016) reportaron valores de 0.26 ($R^2=0.98$) para 104 variedades de camote; Vásquez *et al.* (2004) reportaron valores de 0.26 ($R^2=0.99$) en PC, 0.09 ($R^2=0.93$) para EE; 0.21 ($R^2=0.99$) para CZ y 0.69 ($R^2=0.95$) para FDN, en 70 muestras de 18 variedades de pasto guinea en Colombia.

En el Cuadro 6, en los estadísticos estimadores de calidad RER (proporción del rango con el error) en alfalfa los valores para PC (11.71) y RPD (desviación residual predictiva) en el mismo forraje los valores para PC (3.46), FDN (2.81) y EE (2.00), y es así que para alfalfa los valores RER y RPD tienen alto poder de predicción en PC, EE y FDN; en el Cuadro 9, para los mismos estadísticos estimadores de calidad RER en trébol rojo los valores reportados son para PC (12.72) y FDN (9.69), para RPD en el mismo forraje los valores para PC (3.28) y FDN (2.87) son considerados buenos, es así que por los valores de RER y RPD obtenidos se considera un buen poder de predicción de la calibración y validación en PC y FDN para el trébol rojo; en el Cuadro 12, para los mismos estadísticos estimadores de calidad para RPD en este colectivo son PC (2.00), CZ (2.17) y FDN (2.00), es así que para la combinación alfalfa-trébol rojo los valores RPD tienen alto poder de predicción en PC, CZ y FDN.

Las predicciones NIRS y su exactitud dependerán de la precisión de los análisis químicos y matemáticos. Valores altos obtenidos de RPD (>2.0) (Chang *et al.*, 2001; Esquivel *et al.*, 2018) y RER (>10) (AOAC, 2016) nos indican alta capacidad de predicción para contenido de PC y FDN en las muestras del conjunto de variedades de alfalfa-trébol rojo (*Trifolium pratense*) mediante la técnica NIRS.

V. CONCLUSIONES

En las condiciones que se ha realizado el presente trabajo de investigación se concluye:

- Las ecuaciones de calibración y validación NIRS obtenidas en el presente trabajo nos permiten establecer capacidad de predicción alta de los componentes nutricionales de proteína cruda, cenizas totales y fibra detergente neutra para variedades de alfalfa (*Medicago sativa*) y trébol rojo (*Trifolium pratense*).

VII. RECOMENDACIONES

- Ampliar el número de muestras de estas pasturas con estados fenológicos mucho más amplios (mayores y menores), con el objetivo de perfeccionar las curvas de predicción para estas especies forrajeras.
- Ampliar el número de muestras en diferentes estaciones del año para ambos cultivos forrajeros para mejorar la precisión de gráficas y espectros estacionales.
- Evaluar los mismos forrajes en otras regiones de nuestro país para estandarizar y diversificar la información, haciéndola cada vez más relevante.
- Desarrollar estudios para determinar curvas de calibración y validación, para evaluación nutricional de diversos forrajes, a fin de que el NIRS se constituya en una rutina de evaluación analítica de la composición nutricional de estos.
- Desarrollar estudios de determinación de curvas de calibración y validación en anti nutrientes contenidos en diversos tipos de forrajes, a fin de que el NIRS se constituya en una rutina de evaluación analítica de la composición nutricional de forrajes y piensos.

VIII. REVISION BIBLIOGRAFICA

1. **Albán R, 1992.** Evaluación de quince variedades de alfalfa en dos localidades de la Sierra Ecuatoriana. Tesis Ing. Agr. Quito, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas, pp. 106 - 122.
2. **Alomar D, Fuchslocher R. 1997.** Fundamentos de NIRS como análisis de forrajes. Agrosur, Vol 26, N°1, Valdivia, Chile.
3. **Andina W, Argote G. 2006.** Guía práctica de pastos cultivados. Puno: INIA Puno.
4. **Andueza D, Picard F, Jestin M, Andrieu J y Baumont R. 2011.** NIRS Prediction of the feed value of temperate forages: Efficacy of four calibration strategies. *Animal* 5:1002-1013. doi: 10.1017/S1751731110002697.
5. **Andrés L, Murray I, Calleja A y Giráldez F. 2005.** Review: Nutritive evaluation of forages by near infrared reflectance spectroscopy. *J Near Infrared Spec* 13:301-311. doi: 10.1255/jnirs.561
6. **Arbaiza T. 2007.** Manual de procedimientos para el análisis proximal de alimentos. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Medicina Veterinaria.
7. **[AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1990.** Official methods of analysis. 15th. ed. Vol 1. Arlington, Virginia, USA. AOAC. 746 p.
8. **[AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2016.** Official methods of analysis. 17th. ed. Vol 2. Arlington, Virginia, USA. AOAC. 846 p.
9. **Asekova S, Shin D, Lee J, Park S, Han S, Choi H, Kwon C, Shannon J. 2016.** Determination of quality by NIRS in soybean forage. *Turk. Agric For* 40: 45-52. doi: 10.3906/tar-1407-33).

10. **Barnes R y Marten G. 1979.** Recent developments and predicting in forage quality. *Animal Science*. 48:1554-1560.
11. **Barnes D, Dempsey C. 1993.** Grazing trials with sheep on kikuyu (*Pennisetum clandestinum* Chiov.) foggage in the eastern Transvaal highveld. *Afr. J. Range & Forage Sci.*, 10: 66-71
12. **Basigalup D, Rossanigo R. 2006.** Panorama actual de la alfalfa en la Argentina. En: Basigalup, D.H. ed. *El cultivo de alfalfa en la Argentina*. Ediciones INTA. Pág. 15-25.
13. **Beyer E. 1997.** Degradación y dinámica ruminal de la materia seca sobre ensilajes y su predicción por NIRS. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia. 118 pp.
14. **Blosser T, Reeves J, Bond J. 1988.** Factors affecting the analysis of the chemical composition of tall fescue with near infrared reflectance spectroscopy. *J Dairy Sci* 71:398-408.
15. **Bojórquez C, Rojas J, Ordóñez J. 2015.** Pastos cultivados en el valle del Mantaro. Fondo Editorial UNMSM. Lima. 147 pp.
16. **Brown W, Moore J, Kunkle E, Chambliss W, Portier K. 1990.** Forage testing using NIRS. *Journal of Animal Science*, Vol. 68. 1416-1427.
17. **Cajarville C, Repetto J, Curbelo A, Soto C, Cozzolino D. 2003.** Determination of dry matter (DM) and nitrogen degradability in forages by NIRS. *British Society of Animal Science. Annual Meeting. USA.* p.154.
18. **Cañas R. 1998.** Nutrición y alimentación animal. Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Chile.
19. **Castro P. 2002.** Uso del NIRS en el análisis de forrajes. Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo. REU Technical Series No.64. La Coruña. España. 225 pp.
20. **Chang C, Laird M, Mausbach J, Hurburgh R. 2001.** Near-infrared reflectance spectroscopy-Principal components regression analyses of soil properties. *Soil Science Society of America Journal* 65: 480-490

21. **Chen D, Cai W, Shao X. 2007.** An adaptive strategy for selecting representative calibration samples in the continuous wavelet domain for NIRS analysis. *Anal Bional Chem* 387:1041-1048. DOI: [10.1007/s00216-006-0967-3](https://doi.org/10.1007/s00216-006-0967-3)
22. **[CIP] Centro Internacional de la Papa. 2014.** Laboratorio de Calidad y Nutrición. Análisis de espectroscopía de reflectancia del infrarrojo cercano. [Internet], [4 de Setiembre 2018]. Disponible en:
<https://research.cip.cgiar.org/confluence/display/CIPQNLesp/NIRS>
23. **Coleman S, Windham W. 1989.** In-Vivo & In-Vitro Measurements of Forage Quality. In: Marten G, Shenk J and Bartoni F. 1989. NIRS: Forage Quality and analysis. U.S.A. Department of Agriculture. Agriculture Handbook. No.643. pp:83-95.
24. **Conzen, J-P. 2014.** Multivariate calibration. A practical guide for developing methods in the quantitative analytical chemistry. Bruker 7:127.
25. **Corson D, Waghorn G, Ulyatt M y Lee J. 1999.** NIRS: Forage analysis and livestock feeding. *Proc New Zeal Grasslands Assoc* 61:127-132.
26. **Cozzolino D. 2002.** Uso de NIRS para análisis de alimentos animales. *Agrociencia* 6: 25-32.
27. **Cozzolino D, Fassio A, Fernández E. 2003.** The use of NIRS to predict the composition of whole maize plants. *J Science Food Agriculture* 81: 142-146.
DOI: [10.1002/1097-0010\(20010101\)81:1<142::AID-JSFA790>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20010101)81:1<142::AID-JSFA790>3.0.CO;2-I)
28. **Cozzolino D, LaManna A, Fernández E, Restaino E. 2006.** Valoración y composición química del heno mediante NIRS. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Estación Experimental INIA “La Estanzuela”. Uruguay. 203-207p.
29. **Cruz M, Sánchez J. 2000.** Nutrición Animal Tropical, Vol.6, N°1. Fibra En La Alimentación Del Ganado Lechero.
30. **Cueto W, Quiroga H. 2000.** Producción y Utilización de la Alfalfa en la Zona Norte de México. Fertilización de la Alfalfa. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Centro de Investigación Regional Norte Centro (CIRNOC). Torreón, México. 102 p.

31. **Dara S, Berdahl J, Karn J. 1991.** Analysis and Forage Quality Using NIRS. North Dakotas Farm Research. 48 (5) : 6 - 7.
32. **Davies A, Grant A. 1987.** Nirs of food. J. Food Sci. Tech. 22:191p.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1987.tb00479.x> (ingreso: Ago 2018)
33. **Deaville E, Flinn P. 2000.** NIRS: approach for estimation of forage quality and voluntary intake. In: Forages and evaluations in ruminant nutrition. Eds. Givens, D., Owen, R., Axford, H. CABI. Publishing, United Kingdom. pp.301. DOI : 10.1079/9780851993447.0301
34. **Deinum B, Maassen A. 1993.** Effects of drying temperature on chemical composition and in-vitro digestibility of forages. Animal Feed Science and Technology. 46:75-86. doi.org/10.1016/0377-8401(94)90066-3
35. **De la Roza B. 1993.** Uso de NIRS en el análisis de forrajes y sus subproductos. Programa de pastos y forrajes. Instituto de Experimentación y Promoción Agraria. Consejería de medio rural y pesca. Serie Informes Técnicos nº. 2 / 93. Principado de Asturias. La Estanzuela. Uruguay. 203-207p
36. **Donovan T, Meek B. 2010.** Responses of alfalfa and different levels of irrigation. California. 14° Alfalfa Symposium, USA. December 5 - 6. pp.20-72.
37. **Esquivel B, Cueto J, Cruz C, Guerrero A, Jarquín A, Burgos D. 2018.** Carbono orgánico y nitrógeno total en forestales de México mediante espectroscopia VIS-NIR. <https://cienciasforestales.inifap.gob.mx/editorial/index.php/forestales/article/view/158/1560> DOI:<https://doi.org/10.29298/rmcf.v9i47.158>
38. **[FAO] Food and Agriculture Organization. 1993** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Análisis proximales. [Internet] México, D.F., 1993 [Consultado el 29 de junio del 2018]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S03.htm>

39. **[FAO] Food and Agriculture Organization. 2014.** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Alfalfa [Internet]. 2018; [actualizado 2018; citado 10 julio 2018]. Disponible en: <http://www.fao.org/land-water/databases-and-software/crop-information/alfalfa>
40. **[FAO] Food and Agriculture Organization. 2016.** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación Viale delle Terme di Caracalla, 00153, Rome, Italy FAO, 2016 <http://www.fao.org/pulses-2016/news/news-detail/es/c/337279/>
41. **[FEDNA] Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, 2014.** Fundación Española para el Desarrollo De La Nutrición Animal, 2014. Congreso FEDNA – 2014.
42. **Fernández, H. 2002.** Composición de alimentos para rumiantes. EEA INTA Balcarce. Argentina. 300 p. doi:10.1002.
43. **Gabrielsen B, Knudsen D, Vogel K. 1988.** Comparison in-vitro dry matter (DM) digestibility and cellulose digestion for NIRS equations using cool season grasses. Crop.Sci.28:44.
44. **García A, García B, Ruano A, Pérez M, Vázquez M, de Aldana B. 1993.** Application of NIRS to chemical analysis of heterogeneous and botanically complex grassland samples. J Sci Food Agric 63:419-426.doi:10.1002.
45. **Garrido A, Gómez A y Guerrero J. 1993.** Posibilidades, limitaciones en aplicación de técnica NIRS en la evaluación nutricional de alimentos para el ganado. En: A. Gómez Cabrera y E.J. de Pedro Sauz (Eds.), Nuevas Fuentes de Alimentos para la Producción Animal IV, Tunta de Andalucía, Consejería de Agricultura y Pesca, pp.: 243-255.
46. **Garrido V, Guerrero J, Pérez M, Gómez C. 2000.** Avances en el uso de la tecnología NIRS, aplicaciones en producción animal. Universidad Politécnica de Córdoba, España;2000.
47. **Givens D, De Boever J and Deavie E. 1997.** Principles, practices and future applications of NIRS for predicting the nutritive value of foods for animals and humans.

48. **Greenfield H, Southgate D. 2003.** Composición de alimentos: obtención, gestión, manejo, uso. FAO. Roma. Italia.
49. **Houston J, Pinchak W. 1991.** Range animal nutrition. In: Grazing management: An ecological perspective. Timber Press Inc. p 20-53.
50. **ISI. 1992.** Routine operation, calibration and network system software for NIRS instruments. Infracore International. Silver Spring. Perstorp Analytical Inc. MD 20904, 328 p.
51. **Jiménez P. 2007.** Identificación química en Harina de Yuca (*Manihot esculenta*, var Crantz) con alto contenido proteico mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS). Tesis de grado presentada como requisito parcial para optar al título de Maestra en Ciencias Agrarias con énfasis en Producción Animal Tropical. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia. 2,39p.
52. **Keim A, Alomar A, Charles B. 2015.** Prediction of crude protein (CP) and neutral detergent fiber (NDF) in residues of in-situ ruminal degradation of pasture by NIRS. Animal Production Science 56: 1504 - 1511.doi: 10.1071.
53. **Kennedy C, Shelford J y Williams P. 1996.** NIRS analysis of intact grass silage and fresh grass for dry matter, crude protein and acid detergent fiber. In: A.M.C. Davies y P. Williams (Eds.), Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves. Proceedings of the 7th International Conference on Near Infrared Spectroscopy, Montreal, Canada, 6-11 August 1995. NIR Publications, Chichester, UK, pp:524-530.
54. **Liu X, Han L y Young Z. 2011.** Transfer of near infrared spectrometric models for silage crude protein detector between different instruments. J Dairy Sci 94:5599-5610.
55. **Magwaza L, Shimelis H, Messo S, Laurie S, Laing M. 2016.** Development of near infrared reflectance spectroscopy, models for rapid quantification of protein content in sweet potato (*Ipomoea batatas* L. LAM). Food Science Tech 72:63-70.doi: 10.1016/j.lwt.2016.04.032.

56. **Marschner H. 2008.** Mineral Nutrition of Higher Plants. Segunda Edición. Alemania. Academic Press. 889 p. doi.org/10.1016/B978-0-12-473542-2.X5000-7
57. **Marten G, Halgerson J, Cherney J. 1983.** Quality prediction of small grain forages by NIRS. Crop Sci 23:94-101. doi:10.2135/cropsci1983.-0011183X-002300010027x
58. **Marten G, Shenk J, Barton F. 1999.** 2º(eds). NIRS and analysis of forage quality. Agriculture Handbook 643. USDA. 110p.
59. **McDonal P, Edwards R, Greenhalgh J, Morgan CA. 2006.** Nutrición animal. 6a ed. Zaragoza: Acribia, S.A.
60. **Ming-Cheng J, James Ch, Bailey W, Collins J. 1994.** Dietary tannins from cowpeas and tea transiently alter apparent calcium absorption but not absorption and utilization of protein in rats. J. Nutr. 124: 283. DOI:10.1093/jn/124.2.283
61. **Moreno M. 1983.** Las leguminosas, una visión de conjunto. En: Leguminosas de grano. Cubero J.I., Moreno M.T. (Ed.). Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, p. 15-34.
62. **Morón A. 2000.** Fertilidad, suelos y estado nutricional en sistemas agropecuarios de Uruguay. Información Agronómica. Cono Sur. Uruguay. 2000:(8):1-6.
63. **Murray I. 1993.** Forage analysis by NIRS. In: Davies, A., Baker, R., Grant, S., Laidlaw, A. Sward measurement handbook. 2º ed. United Kingdom: British Grassland Society. pp285-312.
64. **Nolí C, Bojórquez C, Ordoñez J. 2006.** Caracterización del cultivo de alfalfa con dormancia 9 en época seca en la Sierra central del Perú. INIA Perú.
65. **Norris K, Shenk J, Barnes R, Moore J. 1976.** Predicting forage quality by NIRS. Journal of Animal Science, Vol.43, N°4.
66. **Ordoñez J y Bojórquez C. 2011.** Manejo del establecimiento de pasturas para zonas alto andinas del Perú. Huancayo: CONCYTEC, 259 pp.
67. **Pereira S, Flores G, Valladares J, Díaz N, Resch C, Fernández B. 2012** Rendimientos y valores nutritivos de nuevas leguminosas como cultivos de invierno en rotaciones

forrajeras intensivas. Galicia. España. Pastos.42(1): 29-50.)

68. **Pond W, Church D, Pond K. 2010.** Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. Segunda edición. Editorial Limusa. México.
69. **Purina. 2014.** Laboratorio central NIR en Perú. [Internet], [4 de Mayo 2016]. Disponible en: <http://www.nutrimientospurina.com.pe/Screens/Investigacion.aspx>.
70. **Reeves J. 1994.** Use of NIRS as a tool for screening treated forages and its products. Journal of Dairy Science. Vol. 77, N°4. doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77038-7
71. **Rojas, J. 2017.** Cultivos temporales en el establecimiento de pasturas de gramíneas y leguminosas. Universidad Nacional Agraria la Molina. Perú.
72. **Rubio L, Molina E. 2016.** Vol 192, N°779. Las Leguminosas En La Agricultura Del Futuro, Las Leguminosas En Alimentación Animal, [Internet], 18 junio 2019). Disponible en <http://arbor.revistas.csic.es/index.php/arbor/article/view/2119/2780>.
73. **Sandoval L, Vélez M, Bueso F. 2008.** Predicción química y nutricional para pastos tropicales por NIRS. Agronomía Mesoamericana 19 (2) : pp. 221-225.
74. **Shenk J, Westerhaus M, Hoover M. 1979.** Analysis of forages by infrared reflectance. J Dairy Sci 62 : 807 – 812. doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(79)83330-5
75. **Shenk J, Westerhaus M. 1991.** Population, sample and calibration procedures for NIRS. Crop Sci. 31:469-474. doi:10.2135/cropsci1991.0011183X003100020049x
76. **Shenk J, Westerhaus M. 1993.** Analysis of Agricultural and Food Products by NIRS. Infracsoft International. P. A. USA.
77. **Torres A, Sierra C. 2000.** Producción y utilización del trébol rosado (*Trifolium pratense* L). Osorno: Instituto de Investigaciones Agropecuarias de la Estación Experimental Remehue. Chile.
78. **Torres J, Vélez V. 2010.** Tablas de composición química nutricional de alimentos y forrajes. Arequipa. Clínica Veterinaria – Universidad Católica Santa María.

79. **Undersander D, Mertens D, Thiex N. 1993.** Recommends forage analyses procedures. National Forage Testing Association, USA.
80. **Valenciaga D, Saliba S. 2006.** NIRS y potencialidades en la evaluación de forrajes. Revista Cubana de Ciencia Agrícolas, Tomo 40, N°.3. pp259-267.
81. **Valenciaga D, Cairo J, De Oliveira E, Oramas A, La O O, Chongo B. 2007.** Obtención de las curvas para calibración en la determinación de la composición química de *Pennisetum purpureum* mediante NIRS. Rev Cubana de Ciencias Agrícolas, Vol. 41, No 2. pp.165-168.
82. **Van Soest P, Roberts J, Lewis B. 1991.** Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal Dairy. 1991; 74: 3583 – 3597. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2
83. **Vásquez D, Abadia B, Arreaza L. 2004.** Aplicación de NIRS para la caracterización nutricional de pasto guinea y maíz grano. Revista Corpoica 5:49-55.
84. **Vasta V, Nudda A, Cannas A, Lanza M, Priolo A. 2008.** Alternative feeds and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. Review. *Animal Feed Science and Technology*, 147: 223 - 246.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.020>. Ingreso 5 octubre 2018.
85. **Vymazal J. 2008.** Waste water treatment, plant dynamics, management in constructed and natural wet lands. Czech Republic: Springer. 348 pp. DOI:10.1007/978-1-4020-8235-1
86. **Voisin A, Pelzer E, Guéguen J, Pellerin S, Huyghe C, Mougél C, Jeuffroy M, Magrini B, Meynard M. 2014.** Legumes for food, biomaterials and bioenergy. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34, pp. 361 - 380. <http://dx.doi.org/10.1007/s13593-013-0189-y>. Ingreso 18 de noviembre 2018.
87. **Wehling C. 2008.** NIRS. En: Nielsen(ed). Análisis de alimentos. España. Acribia. p. 453- 467.
88. **Westerhaus M. 1989.** Validation. In: Marten, Shenk y Barton II (eds). NIRS:

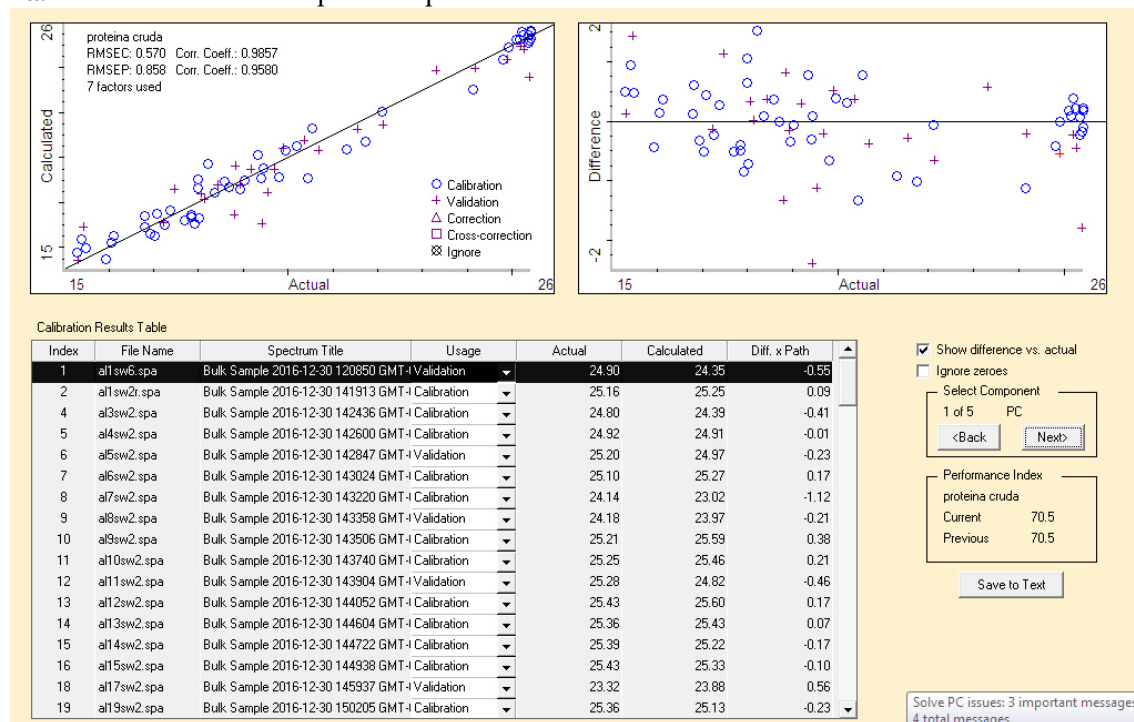
Analysis of Forage Quality. Agriculture Handbook 643.USDA. p.40-41.

89. **Zook E, Stolzy J. 2002.** Anatomical and morphological and physiological responses of alfalfa crops to flooding. Plant and Soil; 96:293-296.

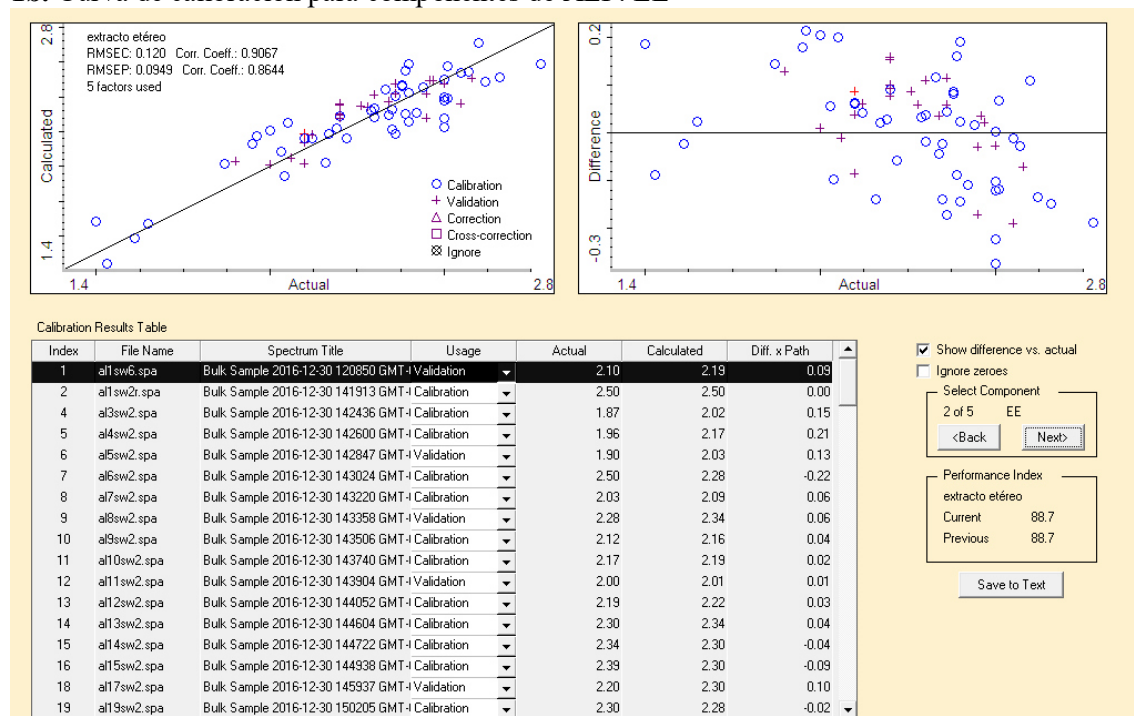
IX. ANEXOS.

Anexo 1. Curvas de calibración para componentes de ALF: PC (1a), EE(1b), CZ (1c), FC (1d) y FDN (1e), obtenidos del programa TQ Analyst™

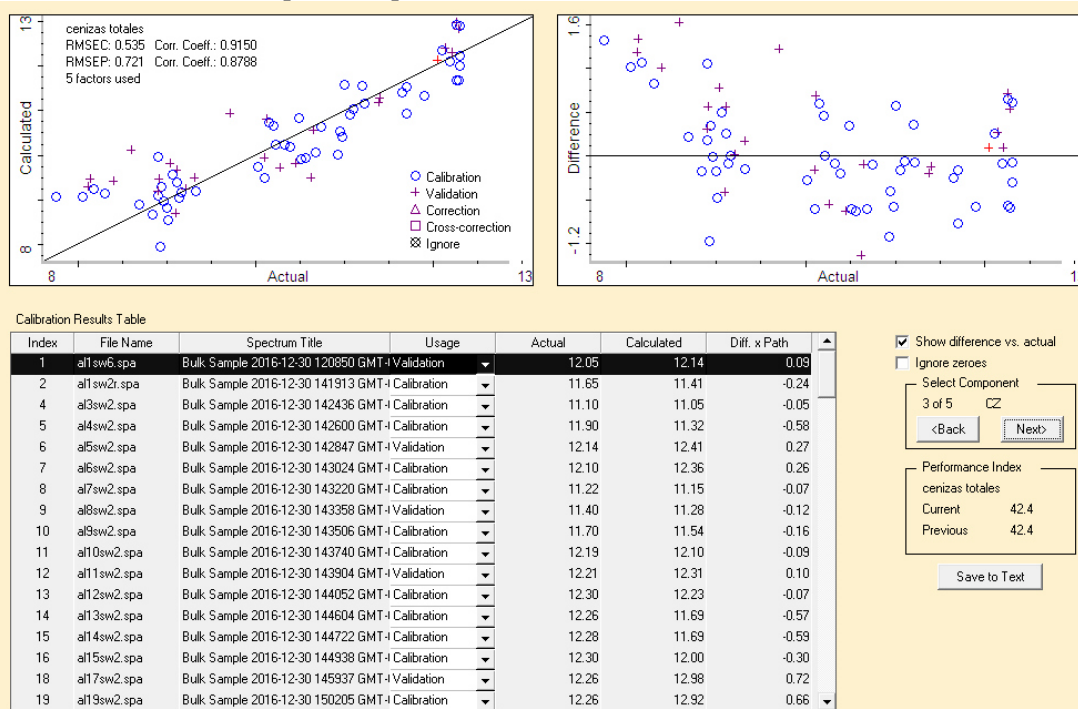
1a. Curvas de calibración para componentes de ALF: PC



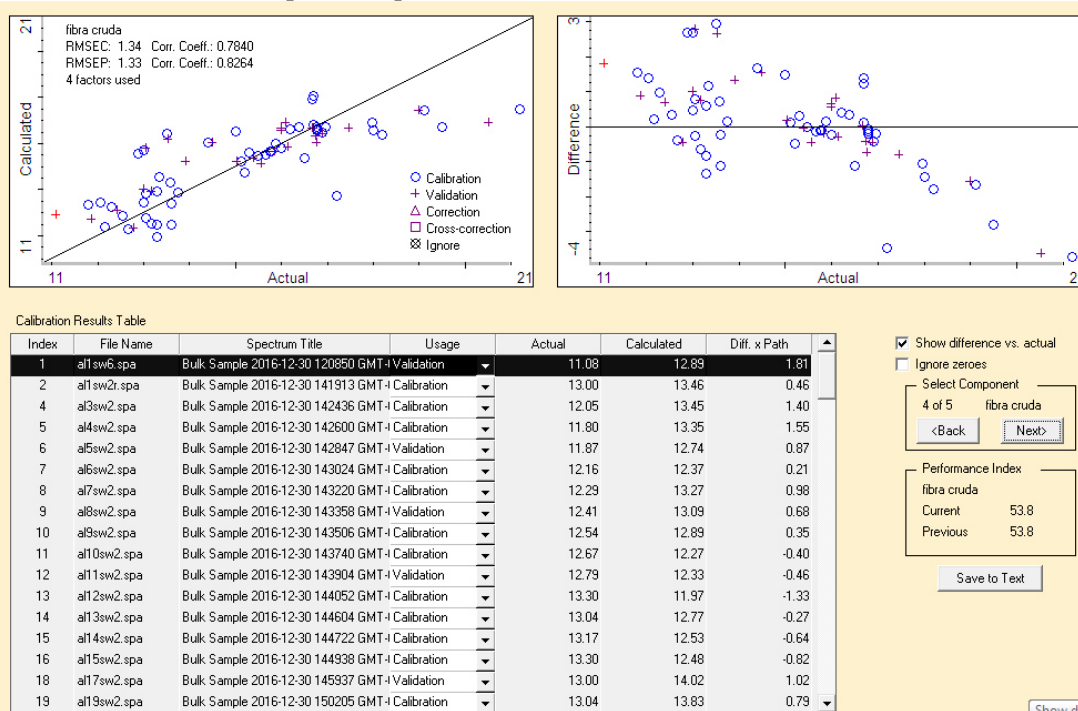
1b. Curva de calibración para componentes de ALF: EE



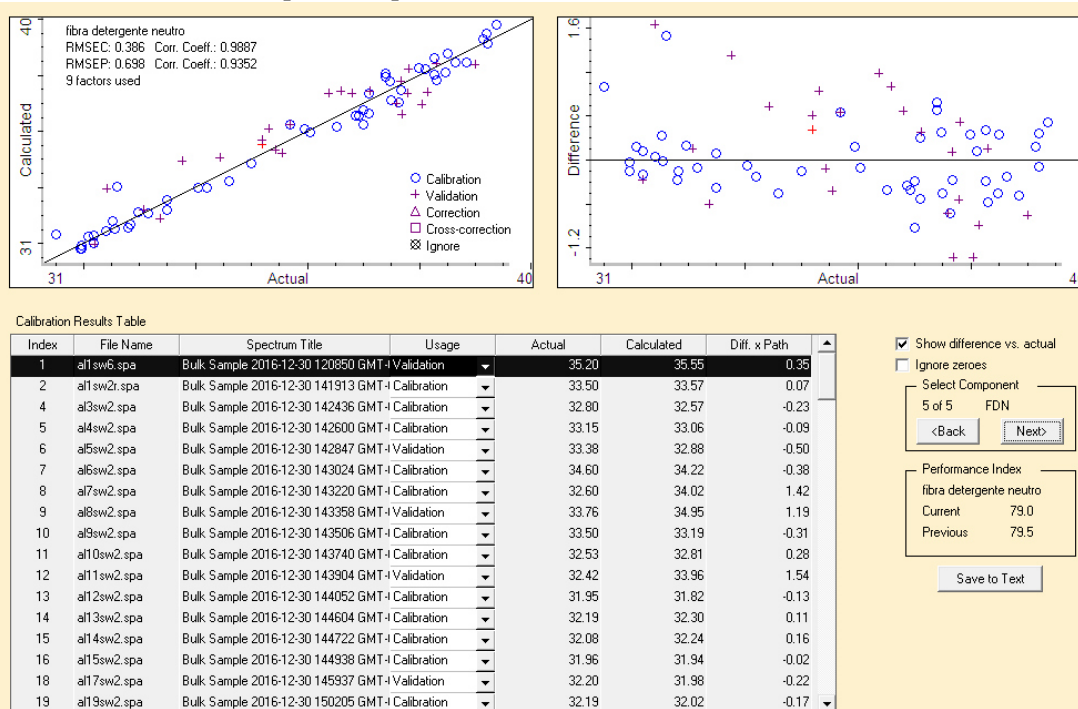
1c. Curva de calibración para componentes de ALF: CZ



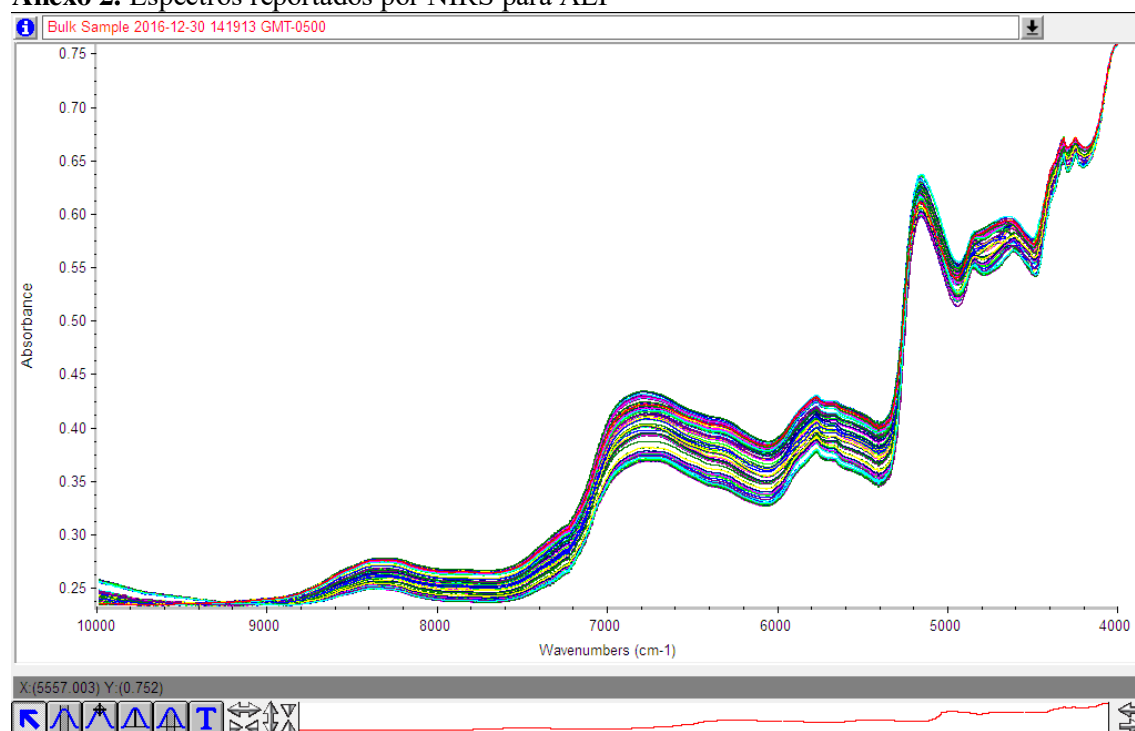
1d. Curva de calibración para componentes de ALF: FC



1e. Curva de calibración para componentes de ALF: FDN

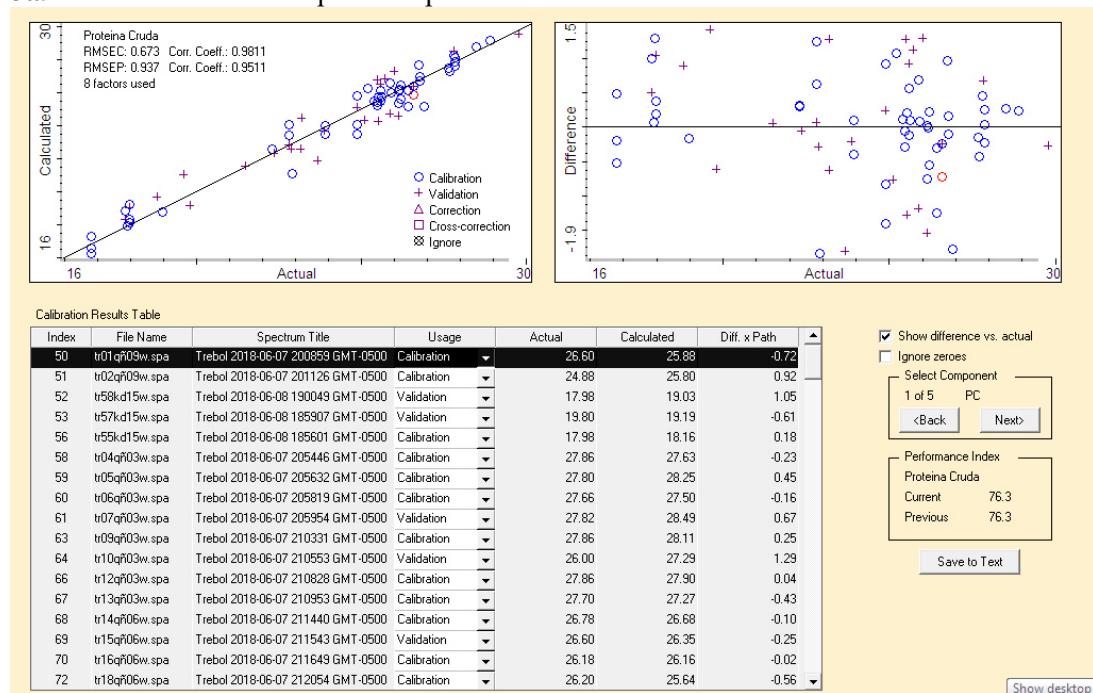


Anexo 2. Espectros reportados por NIRS para ALF

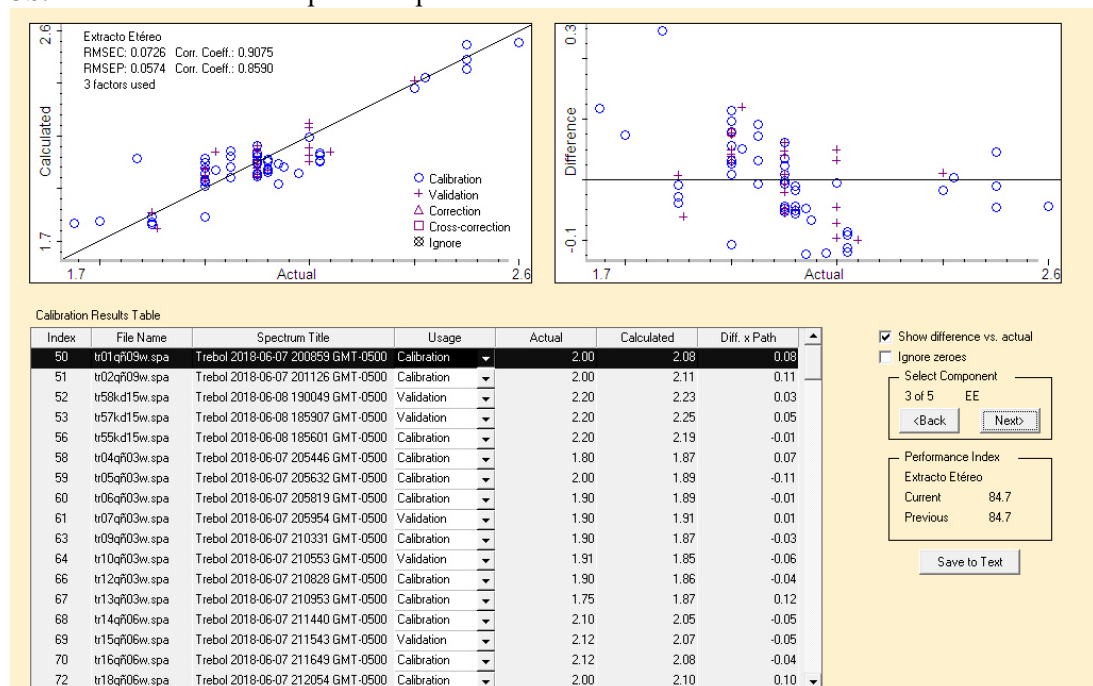


Anexo 3. Curvas de calibración para componentes de TR: PC (3a), EE(3b), CZ (3c), FC (3d) y FDN (3e), obtenidos del programa TQ Analyst™

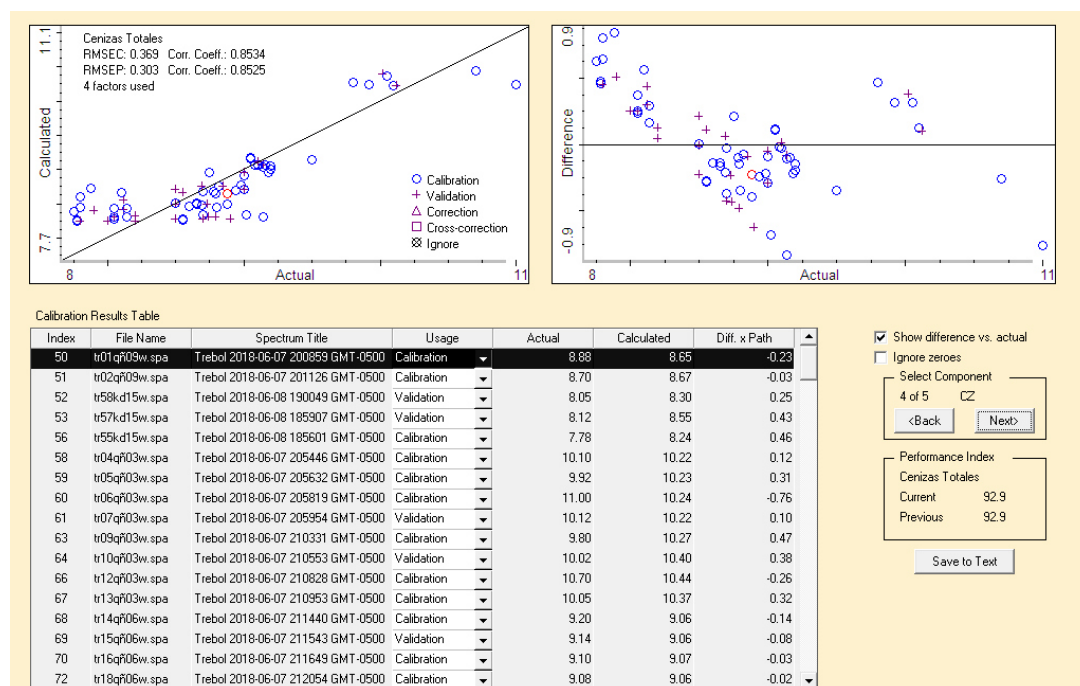
3a. Curvas de calibración para componentes de TR: PC



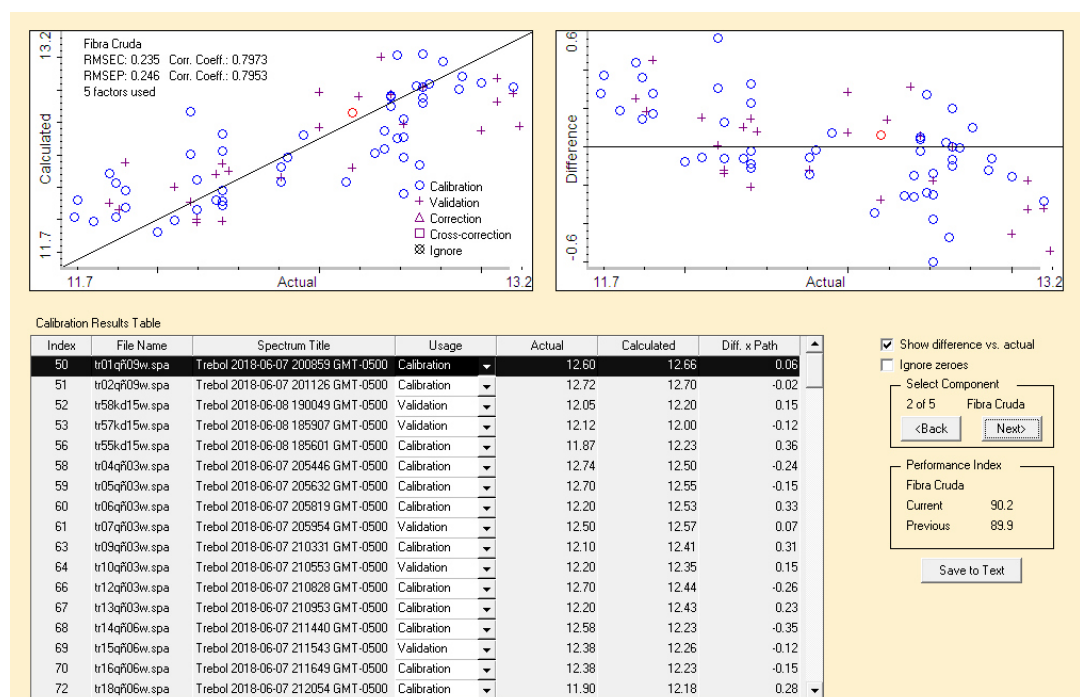
3b. Curva de calibración para componentes de TR:EE



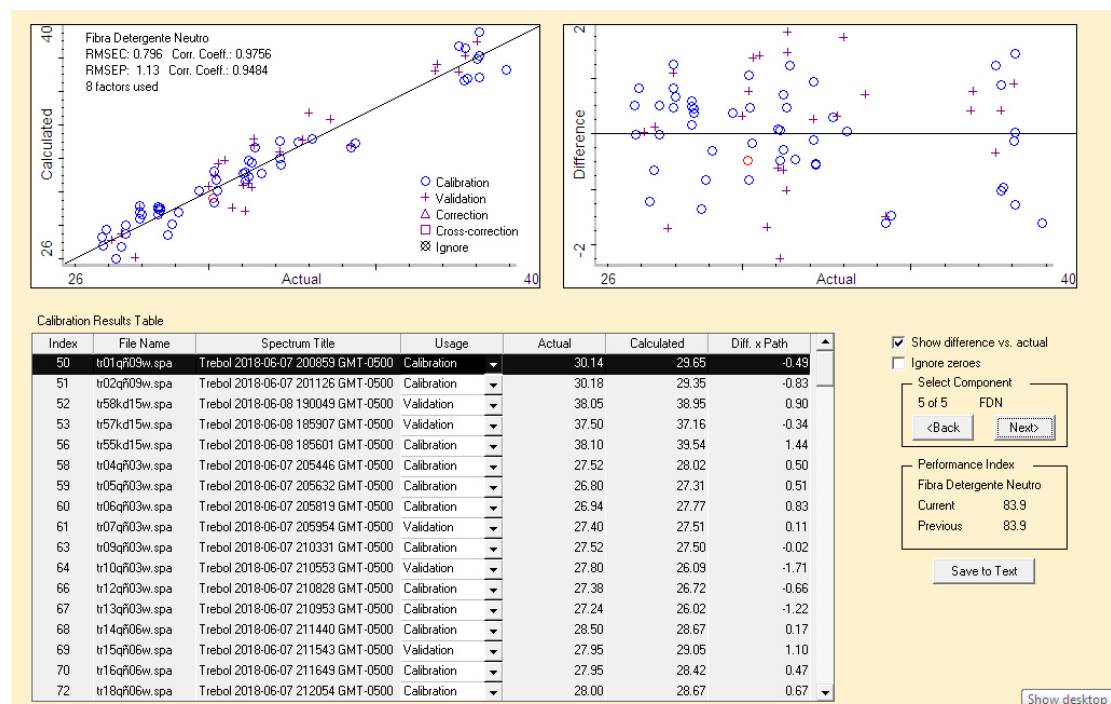
3c. Curva de calibración para componentes de TR: CZ



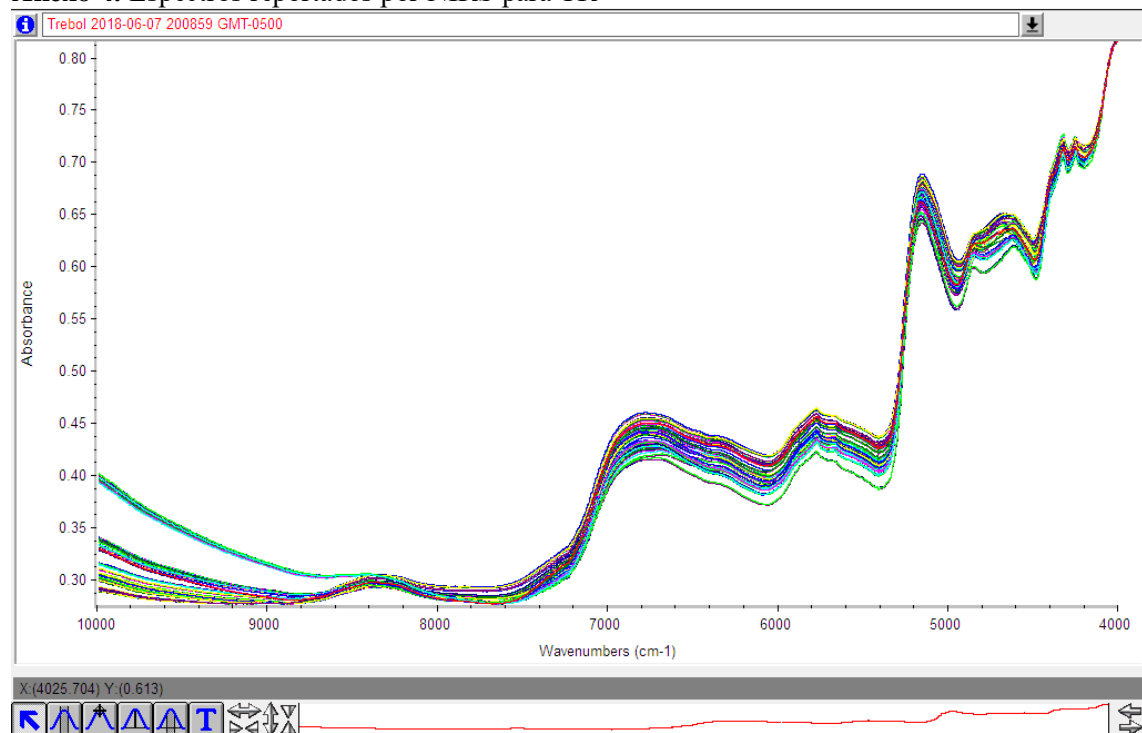
3d. Curva de calibración para componentes de TR: FC



3e. Curva de calibración para componentes de TR: FDN

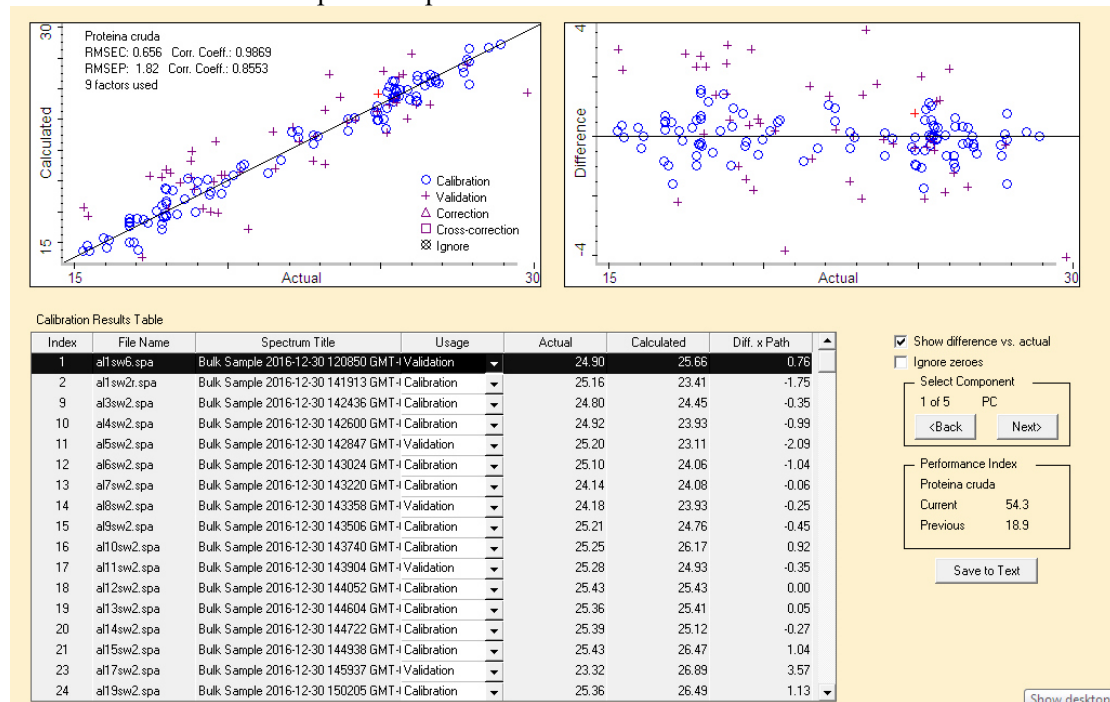


Anexo 4. Espectros reportados por NIRS para TR

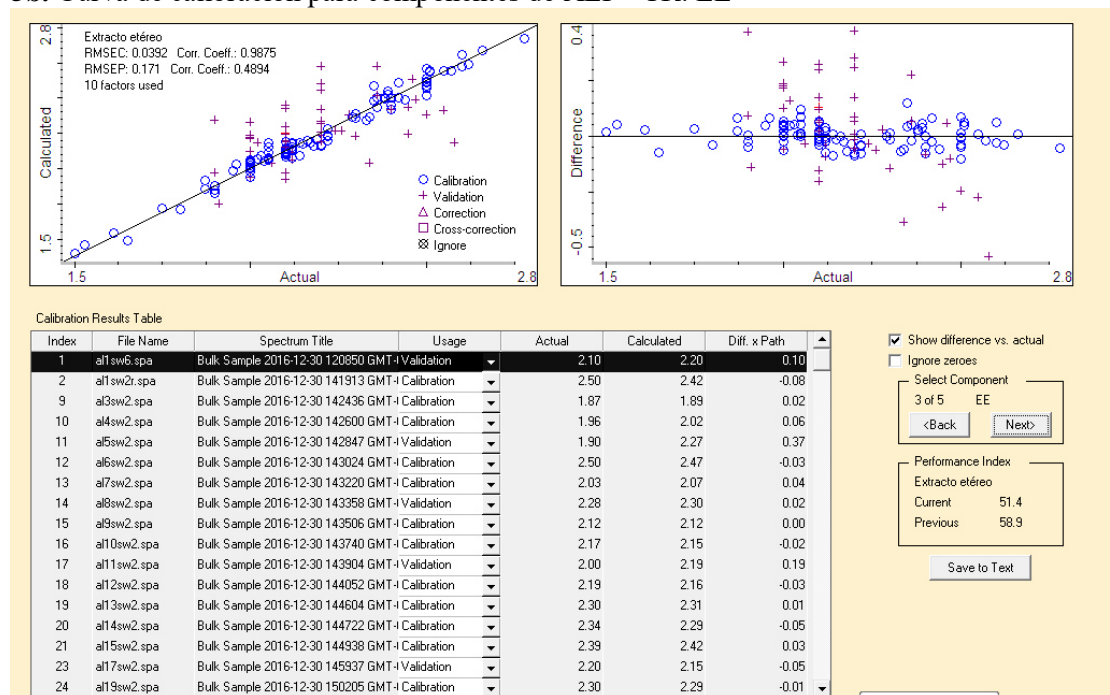


Anexo 5. Curvas de calibración para componentes de ALF - TR en evaluación simultanea: PC (1a), EE(1b), CZ (1c), FC (1d) y FDN (1e), obtenidos del programa TQ Analyst TM

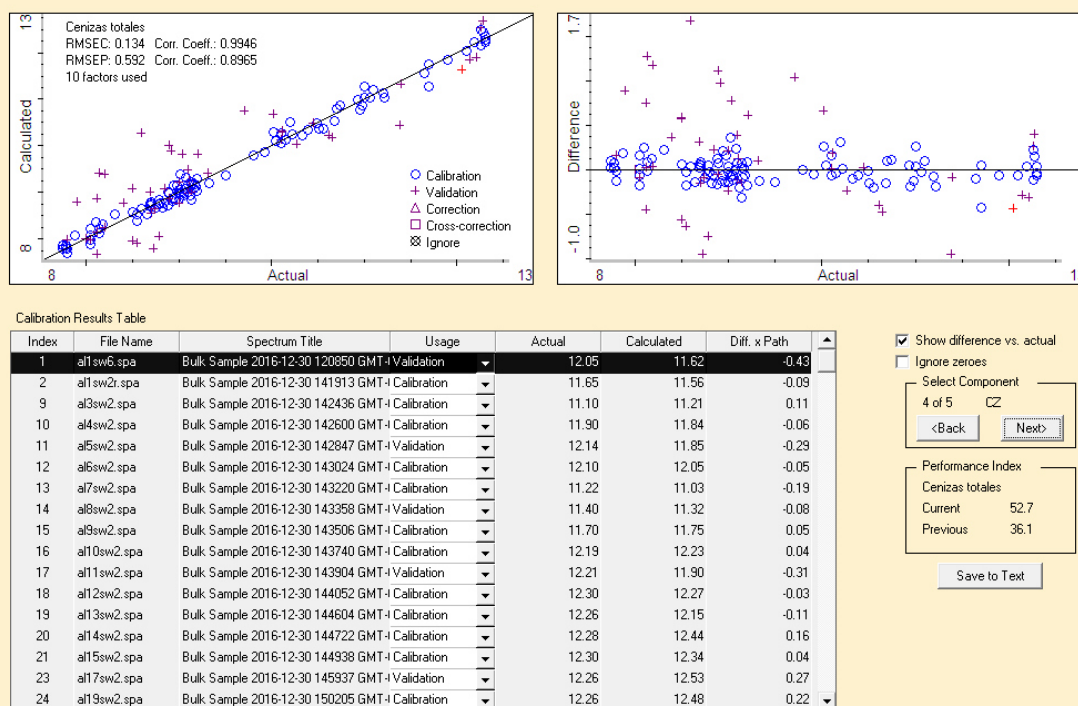
5a. Curvas de calibración para componentes de ALF - TR: PC



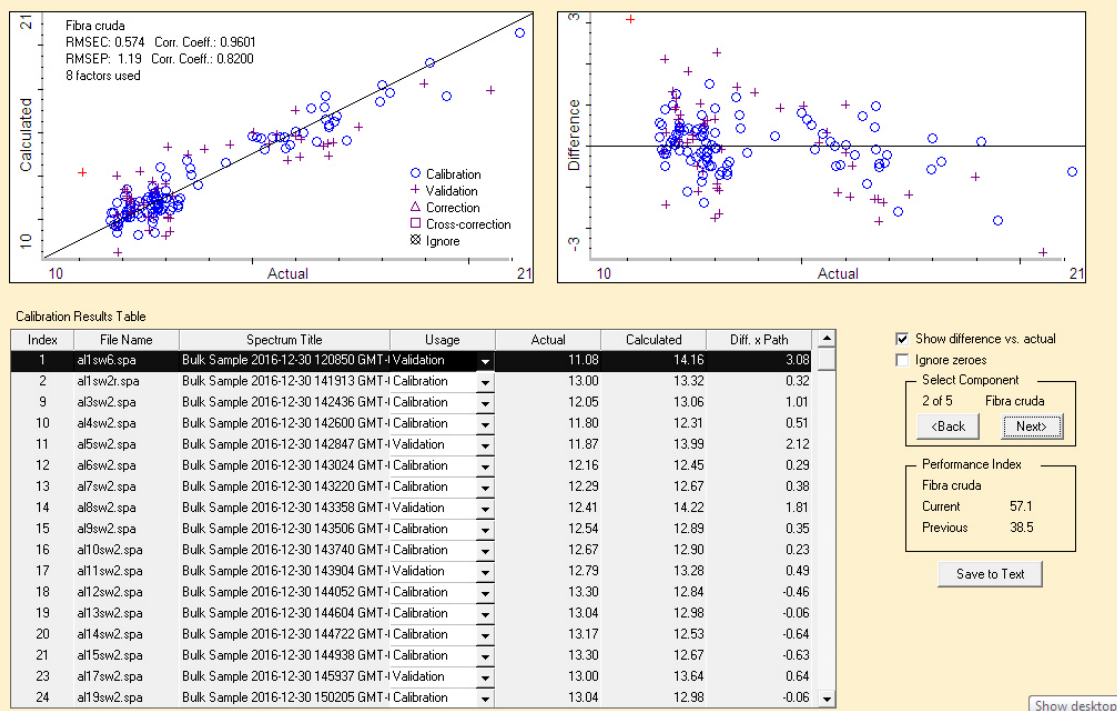
5b. Curva de calibración para componentes de ALF - TR: EE



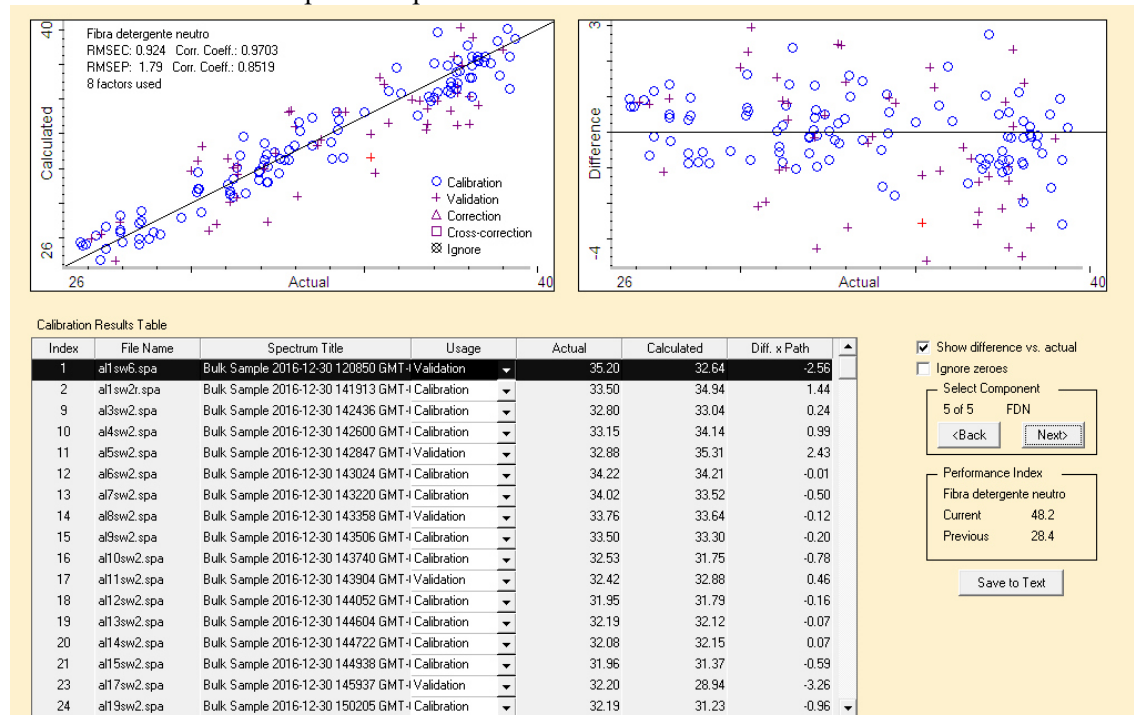
5c. Curva de calibración para componentes de ALF - TR: CZ



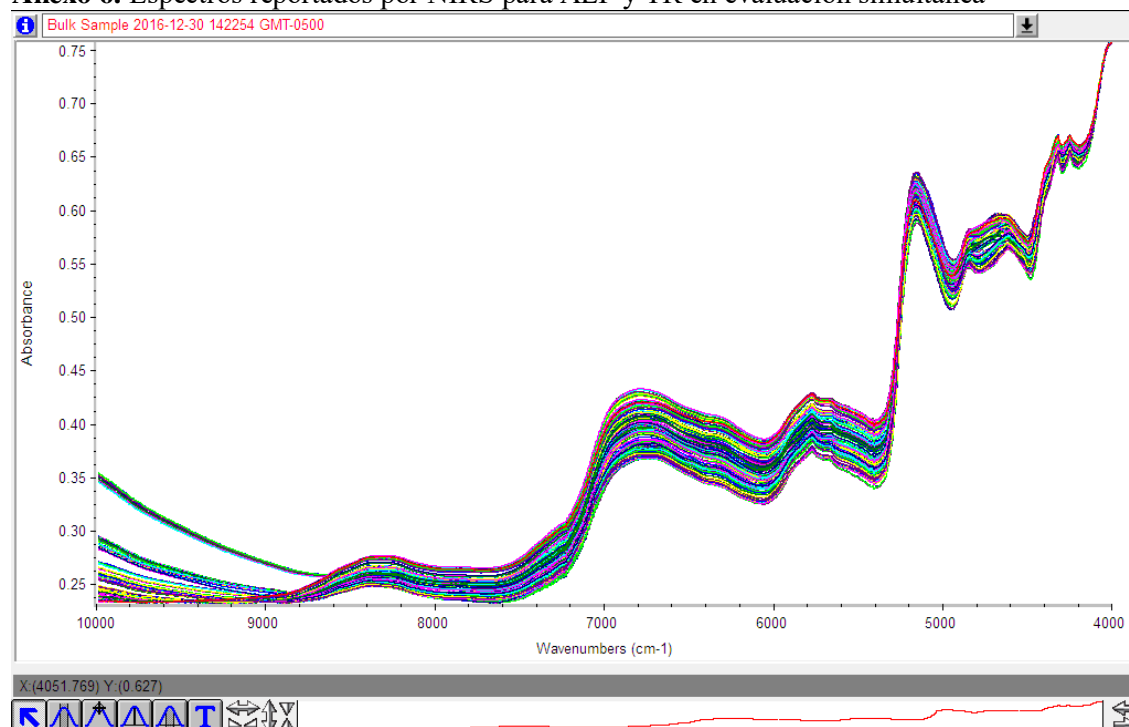
5d. Curva de calibración para componentes de ALF - TR: FC



5e. Curva de calibración para componentes de ALF - TR: FDN



Anexo 6. Espectros reportados por NIRS para ALF y TR en evaluación simultanea



Anexo 7. Data de ALF

Index	File name	Usage	proteína cruda Actual	proteína cruda Calculated	extracto etéreo Actual	extracto etéreo Calculated	cenizas totales Actual	cenizas totales Calculated	fibra cruda Actual	fibra cruda Calculated	fibra detergente neutro Actual	fibra detergente neutro Calculated
2	al1sw2r.spa	Calibración	25.16	25.25	2.5	2.5	11.65	11.41	13	13.46	33.5	33.57
4	al3sw2.spa	Calibración	24.8	24.39	1.87	2.02	11.1	11.05	12.05	13.45	32.8	32.57
5	al4sw2.spa	Calibración	24.92	24.91	1.96	2.17	11.9	11.32	11.8	13.35	33.15	33.06
7	al6sw2.spa	Calibración	25.1	25.27	2.5	2.28	12.1	12.36	12.16	12.37	34.6	34.22
8	al7sw2.spa	Calibración	24.14	23.02	2.03	2.09	11.22	11.15	12.29	13.27	32.6	34.02
10	al9sw2.spa	Calibración	25.21	25.59	2.12	2.16	11.7	11.54	12.54	12.89	33.5	33.19
11	al10sw2.spa	Calibración	25.25	25.46	2.17	2.19	12.19	12.1	12.67	12.27	32.53	32.81
13	al12sw2.spa	Calibración	25.43	25.6	2.19	2.22	12.3	12.23	13.3	11.97	31.95	31.82
14	al13sw2.spa	Calibración	25.36	25.43	2.3	2.34	12.26	11.69	13.04	12.77	32.19	32.3
15	al14sw2.spa	Calibración	25.39	25.22	2.34	2.3	12.28	11.69	13.17	12.53	32.08	32.24
16	al15sw2.spa	Calibración	25.43	25.33	2.39	2.3	12.3	12	13.3	12.48	31.96	31.94
19	al19sw2.spa	Calibración	25.36	25.13	2.3	2.28	12.26	12.92	13.04	13.83	32.19	32.02
21	al20sw2.spa	Calibración	25.43	25.65	2.39	2.55	12.3	12.91	13.3	13.91	31.96	31.83
53	al48sw6.spa	Calibración	22.1	22.04	2.5	2.38	11.2	11.56	13.35	14.53	34.05	33.98
55	al54sw6.spa	Calibración	21.74	20.73	1.95	2.13	11.7	10.93	16	15.78	34.2	34.01
56	al51sw6.spa	Calibración	20.53	21.3	2	2.2	11.06	10.9	13	15.69	35	34.87
59	al55sw6.spa	Calibración	19.8	19.13	2.05	2.25	10.2	10.67	14.39	16.06	35.69	36.23
60	al56sw9.spa	Calibración	19.34	20.11	2.1	2.16	10.15	10.75	15.87	16.01	37	36.23
62	al58sw11.spa	Calibración	19.4	19.09	2.2	2.29	10.02	9.74	16.2	16.6	36.05	35.96
63	al59sw11.spa	Calibración	19.03	18.97	2.22	2.16	10.22	10.23	16.95	16.74	36.52	36.18
65	al61sw6.spa	Calibración	18.58	18.95	2.29	2.32	10.33	10.24	17.97	16.9	37.1	37.35
66	al62sw11.spa	Calibración	18.36	18.44	2.33	2.45	10.39	10.2	19.5	16.71	37.39	37.95
68	al64sw13.spa	Calibración	21.3	20.39	2.5	2.23	8.69	8.9	12.88	15.58	31.5	32.33
70	al66sw13.spa	Calibración	17.98	18.62	2.36	2.19	8.9	9.09	15.78	15.68	36.92	36.58
71	al67sw13.spa	Calibración	17.98	19.04	2.42	2.31	9.33	9.18	16.5	15.38	36.86	36.57
73	al69sw13.spa	Calibración	18.69	18.68	2.35	2.21	9.17	9.17	15.75	15.64	37.48	37.8
74	al70sw13.spa	Calibración	18.94	18.6	2.35	2.33	9.14	9.05	15.66	15.52	37.64	37.03
75	al71sw15.spa	Calibración	17.84	17.45	2.66	2.51	9.12	9.38	13.5	16.45	37.68	37.45
76	al72sw15.spa	Calibración	15.4	16.34	2.5	2.4	7.75	9.07	16.78	16.59	37.5	37.12
78	al74sw15.spa	Calibración	15.28	15.78	2.78	2.59	8.05	9.06	16.9	16.49	37.4	38.05
80	al76sw15.spa	Calibración	16.05	16.2	2.62	2.49	8.18	9.25	16.78	16.64	38.1	38.21
81	al77sw15.spa	Calibración	15.93	15.49	2.51	2.39	8.31	9.14	16.78	16.73	38.27	38.61
83	al79sw15.spa	Calibración	18.22	19.74	2.4	2.26	10.49	10.84	17.2	13.73	39.2	39.5
89	al1wl4.spa	Calibración	18.01	17.3	1.65	1.67	11	11.58	13.6	12.47	32.97	33.14
90	al2wl4.spa	Calibración	17.38	17.65	1.61	1.59	10.98	10.4	13.75	13.89	32.83	32.7
92	al4wl4.spa	Calibración	16.12	16.49	1.53	1.44	10.95	10.54	13.6	13.39	32.55	32.54

93	al5wl4.s pa	Calibrati on	15.49	15.98	1.5	1.69	10.93	10.01	13.58	14.3	32.41	32.44
96	al3wl6.s pa	Calibrati on	17.92	17.07	2.4	2.59	10.51	9.9	21.2	17.48	37.98	38.27
97	al4wl6.s pa	Calibrati on	17.69	17.18	2.44	2.46	10.56	9.93	19.1	17.44	38.27	38.03
99	al1wl9.s pa	Calibrati on	17.25	17.02	2.51	2.58	10.68	10.07	18	16.58	38.85	38.44
100	al2wl9.s pa	Calibrati on	17.03	16.51	2.55	2.54	10.74	10.65	18.2	16.4	39.14	39.3
101	al3wl9.s pa	Calibrati on	16.8	17.4	2.38	2.46	8.9	9.95	15	16.5	35.94	36.1
102	al4wl9.s pa	Calibrati on	17.84	17.36	2.4	2.42	10.1	9.49	16.38	16.71	37.1	36.66
106	al3wl11. spa	Calibrati on	19.44	19.54	2.36	2.4	9.07	9.57	15.48	15.48	37	36.76
108	al1wl13. spa	Calibrati on	19.94	20.32	2.57	2.54	9	8.82	15.3	15.6	38.31	37.83
109	al2wl13. spa	Calibrati on	20.19	20.51	2.6	2.71	8.97	8.96	15.21	14.72	38.47	38.1
110	al3wl13. spa	Calibrati on	20.44	19.1	2.38	2.47	8.94	9.29	15.12	15.23	38.64	38.46
112	al1wl15. spa	Calibrati on	16.79	16.91	2.16	2.02	8.84	8.66	16.7	16.82	39.21	39.13
113	al2wl15. spa	Calibrati on	16.93	16.6	2.1	2.16	8.93	7.96	16.69	18.09	39.37	39.8
114	al3wl15. spa	Calibrati on	17.07	17.52	2.04	1.94	9.02	8.54	16.68	17.91	38.5	38.79
1	al1sw6.s pa	Validati on	24.9	24.35	2.1	2.19	12.05	12.14	11.08	12.89	35.2	35.55
6	al5sw2.s pa	Validati on	25.2	24.97	1.9	2.03	12.14	12.41	11.87	12.74	33.38	32.88
9	al8sw2.s pa	Validati on	24.18	23.97	2.28	2.34	11.4	11.28	12.41	13.09	33.76	34.95
12	al11sw2 .spa	Validati on	25.28	24.82	2	2.01	12.21	12.31	12.79	12.33	32.42	33.96
18	al17sw2 .spa	Validati on	23.32	23.88	2.2	2.3	12.26	12.98	13	14.02	32.2	31.98
20	al18sw2 .spa	Validati on	25.39	23.6	2.34	2.38	12.28	12.82	13.17	13.93	33.08	33.2
52	al47sw6 .spa	Validati on	22.13	21.47	2.2	2.36	11.38	11.19	13.92	15.25	35.32	36.1
54	al49sw9 .spa	Validati on	21.55	21.27	2.26	2.35	10.12	10.81	13.05	15.82	34.44	35.05
57	al52sw6 .spa	Validati on	19.9	20.42	2.3	2.41	10.65	10.56	13.53	16.18	36.38	37.37
58	al53sw9 .spa	Validati on	20.38	20.75	2.45	2.42	9.71	10.93	14.5	16.07	36.6	37.44
61	al57sw1 l.spa	Validati on	19.54	18.42	2.12	2.18	10.1	9.94	16.1	16.92	35.7	36.25
64	al60sw1 l.spa	Validati on	18.8	17.47	2.45	2.28	10.27	9.72	17.46	16.66	36.81	37.36
67	al63sw1 l.spa	Validati on	18.92	18.77	2.2	2.28	8.6	10.12	16	16.65	37.12	37.44
69	al65sw1 3.spa	Validati on	18.84	19.65	2.1	2.01	9.32	9.49	16.15	15.86	35.2	35.71
72	al68sw1 3.spa	Validati on	18.44	18.81	2.1	2.14	9.21	9.23	15.84	15.64	38.31	38.44
77	al73sw1 5.spa	Validati on	15.32	15.44	2.2	2.35	8.12	9.3	16.88	16.42	37.68	37.77
79	al75sw1 5.spa	Validati on	15.45	16.89	2.55	2.36	8.14	9.48	16.75	16.33	38.05	36.94
82	al78sw1 5.spa	Validati on	18.07	18.39	2.46	2.49	8.4	9.41	16.77	16.04	35.43	35.32
95	al2wl6.s pa	Validati on	18.14	18.15	2.36	2.47	10.45	9.82	18.99	17.44	37.69	36.58
98	al5wl6.s pa	Validati on	17.47	18.61	2.47	2.49	10.62	9.49	20.52	16.9	35.56	35.2
103	al5wl9.s pa	Validati on	19.43	17.04	2.2	2.29	8.92	9.48	16	16.57	37.6	36.99
105	al2wl11. spa	Validati on	19.19	19.48	2.5	2.47	9.11	9.67	15.57	15.13	37.81	38.23
107	al4wl11. spa	Validati on	19.69	19.48	2.36	2.42	9.04	9.82	15.39	15.36	38.14	37.4
111	al4wl13. spa	Validati on	20.69	20.32	2.58	2.51	8.9	9.2	15.03	15.2	37.8	37.35
115	al4wl15. spa	Validati on	17.22	17.09	2.06	2.05	9.1	8.69	16.66	16.68	39	38.36

Anexo 8. Data de TR

Index	File name	Usage	Proteina Cruda Actual	Proteina Cruda Calculated	Extracto Etéreo Actual	Extracto Etéreo Calculated	Cenizas Totales Actual	Cenizas Totales Calculated	Fibra Cruda Actual	Fibra Cruda Calculated	Fibra Detergente Neutro Actual	Fibra Detergente Neutro Calculated
50	tr01qñ09w.spa	Calibration	26.6	25.88	2	2.08	8.88	8.65	12.6	12.66	30.14	29.65
51	tr02qñ09w.spa	Calibration	24.88	25.8	2	2.11	8.7	8.67	12.72	12.7	30.18	29.35
56	tr55kd15w.spa	Calibration	17.98	18.16	2.2	2.19	7.78	8.24	11.87	12.23	38.1	39.54
58	tr04qñ03w.spa	Calibration	27.86	27.63	1.8	1.87	10.1	10.22	12.74	12.5	27.52	28.02
59	tr05qñ03w.spa	Calibration	27.8	28.25	2	1.89	9.92	10.23	12.7	12.55	26.8	27.31
60	tr06qñ03w.spa	Calibration	27.66	27.5	1.9	1.89	11	10.24	12.2	12.53	26.94	27.77
63	tr09qñ03w.spa	Calibration	27.86	28.11	1.9	1.87	9.8	10.27	12.1	12.41	27.52	27.5
66	tr12qñ03w.spa	Calibration	27.86	27.9	1.9	1.86	10.7	10.44	12.7	12.44	27.38	26.72
67	tr13qñ03w.spa	Calibration	27.7	27.27	1.75	1.87	10.05	10.37	12.2	12.43	27.24	26.02
68	tr14qñ06w.spa	Calibration	26.78	26.68	2.1	2.05	9.2	9.06	12.58	12.23	28.5	28.67
70	tr16qñ06w.spa	Calibration	26.18	26.16	2.12	2.08	9.1	9.07	12.38	12.23	27.95	28.42
72	tr18qñ06w.spa	Calibration	26.2	25.64	2	2.1	9.08	9.06	11.9	12.18	28	28.67
74	tr20qñ06w.spa	Calibration	25.4	25.51	2.1	2.06	9.5	9.15	11.9	12.07	29.7	30.07
76	tr22qñ06w.spa	Calibration	26.14	26.16	2.05	2.08	9.05	9.16	12.2	12.11	28.5	29.09
77	tr23qñ06w.spa	Calibration	25.88	26.57	2.14	2.09	9.05	9.17	12.2	12.09	29.1	28.8
78	tr04qñ09w.spa	Calibration	25.52	25.73	2	2.01	9	8.71	13.1	12.82	31.05	31.13
80	tr06qñ09w.spa	Calibration	25.48	25.43	2.1	2.05	7.88	8.72	12.94	12.88	31.2	30.9
82	tr08qñ09w.spa	Calibration	25.2	26.28	2	2.06	8.82	8.75	12.84	12.84	30.27	30.1
84	tr10qñ09w.spa	Calibration	25.62	25.72	2.12	2.07	8.98	8.76	13	12.84	31.57	31.1
86	tr24qñ12w.spa	Calibration	24.88	24.05	2.05	2.04	7.8	8.45	12.88	12.98	31.3	31.78
87	tr25qñ12w.spa	Calibration	22.92	21.08	2.12	2.06	8.6	8.46	12.74	13.01	32.12	33.05
88	tr26qñ12w.spa	Calibration	22.3	22.61	2.02	2.07	8.69	8.48	12.82	13.02	32.18	31.64
91	tr39qñ15w.spa	Calibration	16.8	16.27	2.1	2.09	7.75	8.38	12	11.92	37.5	38.72
92	tr29qñ12w.spa	Calibration	22.3	22.61	2.12	2.11	7.8	8.6	12.82	12.75	31.2	31.91
95	tr41qñ15w.spa	Calibration	17.84	18.84	2.05	2.12	8.05	8.43	12.05	11.99	37.66	36.63
97	tr42qñ15w.spa	Calibration	18.98	18.81	2.1	2.12	8.14	8.44	11.8	11.99	38.05	37.91
98	tr32qñ12w.spa	Calibration	23.92	24.02	2.05	2.12	8.78	8.68	12.82	12.82	34.4	32.92
99	tr43qñ15w.spa	Calibration	17.98	18.35	2.05	2.14	8.8	8.45	11.87	12.01	38.1	36.83
100	tr33qñ12w.spa	Calibration	22.8	23.43	2.22	2.13	8.94	8.69	12.93	12.81	32.68	32.98
101	tr34qñ15w.spa	Calibration	17.95	19.23	2.1	2.1	7.78	8.25	11.75	12.12	38.9	37.29
103	tr36qñ15w.spa	Calibration	17.9	17.96	2.1	2.11	8.05	8.31	12.18	12.12	37.74	36.78
105	tr38qñ15w.spa	Calibration	16.8	16.6	2.1	2.13	8.14	8.3	12.12	12.06	38.1	38.13
109	tr04kd03w.spa	Calibration	28.5	28.77	2.4	2.38	9	8.91	12.8	12.82	26.84	26.82
111	tr06kd03w.spa	Calibration	28.9	29.14	2.42	2.42	8.75	8.96	12.82	12.72	28.78	27.43
112	tr07kd03w.spa	Calibration	26.74	27.7	2.5	2.45	9.18	8.96	12.1	12.67	28.92	28.09
113	tr08kd03w.spa	Calibration	26.78	26.94	2.5	2.49	9.2	9.01	12.76	12.62	28.5	28.98
114	tr09kd03w.spa	Calibration	26.6	26.36	2.5	2.55	9.14	9.03	12.45	12.52	28.55	28.93
115	tr10kd03w.spa	Calibration	26.9	25.13	2.6	2.56	9.16	9.06	12.76	12.51	27.95	29.2
116	tr11kd06w.spa	Calibration	26.2	26.42	2	2.03	9.14	8.31	12.76	12.38	28.56	29.02

118	tr13kd06w.spa	Calibration	26.42	26.12	2	2.03	9.02	8.34	11.85	12.29	27.95	28.77
121	tr16kd06w.spa	Calibration	26.42	25.16	2.18	2.06	8.7	8.33	12.38	12.33	30.22	30.7
122	tr17kd06w.spa	Calibration	26.14	25.38	2.14	2.02	8.88	8.49	12.2	12.18	30.18	31.24
129	tr24kd09w.spa	Calibration	25.59	26.15	2.22	2.1	8.55	8.27	12.72	12.76	31.1	30.63
130	tr25kd09w.spa	Calibration	25.59	25.47	2.22	2.11	8.55	8.28	12.72	12.77	31.1	31.17
132	tr27kd09w.spa	Calibration	24.88	23.48	1.87	2.12	8.5	8.51	12.67	12.41	31.4	32.63
137	tr32kd12w.spa	Calibration	25.48	25.2	2.15	2.08	8.65	8.49	12.81	12.34	32.16	31.61
139	tr34kd12w.spa	Calibration	25.92	26	2.12	2.1	8.65	8.51	12.4	12.38	32.12	32.01
141	tr36kd12w.spa	Calibration	22.8	24.05	2	2.08	8.79	8.64	12.76	12.16	34.25	32.65
144	tr39kd12w.spa	Calibration	23.92	23.52	2.22	2.13	8.1	8.67	11.74	12.02	33.1	33.13
148	tr53kd15w.spa	Calibration	16.8	17.29	2.1	2.16	8.05	8.28	12.12	12.25	37.68	38.56
52	tr58kd15w.spa	Validation	17.98	19.03	2.2	2.23	8.05	8.3	12.05	12.2	38.05	38.95
53	tr57kd15w.spa	Validation	19.8	19.19	2.2	2.25	8.12	8.55	12.12	12	37.5	37.16
61	tr07qn03w.spa	Validation	27.82	28.49	1.9	1.91	10.12	10.22	12.5	12.57	27.4	27.51
64	tr10qn03w.spa	Validation	26	27.29	1.91	1.85	10.02	10.4	12.2	12.35	27.8	26.09
69	tr15qn06w.spa	Validation	26.6	26.35	2.12	2.07	9.14	9.06	12.38	12.26	27.95	29.05
73	tr19qn06w.spa	Validation	25.1	24.33	2	2.04	9.1	9.11	11.85	12.1	30.5	31.9
79	tr05qn09w.spa	Validation	25.5	26.78	2	2.04	8.5	8.72	13.05	12.87	31.1	28.85
83	tr09qn09w.spa	Validation	25.71	26.83	2.1	2.04	8.85	8.76	12.72	12.77	30.72	29.04
90	tr28qn12w.spa	Validation	23.2	24.47	2	2.07	8.73	8.5	12.69	13	30	30.32
93	tr40qn15w.spa	Validation	17.84	18.35	2.2	2.1	8.12	8.42	12.12	11.98	37.68	38.1
96	tr31qn12w.spa	Validation	22.88	22.59	2.2	2.13	8.55	8.66	12.82	12.82	31.35	32.8
110	tr05kd03w.spa	Validation	29.8	29.53	2.4	2.41	9	8.95	12.5	12.78	27.1	27.12
117	tr12kd06w.spa	Validation	26.14	24.59	2	2.03	8.2	8.33	11.9	12.35	30.2	30.97
120	tr15kd06w.spa	Validation	25.88	24.69	2	2.05	8.74	8.31	12.6	12.32	31.05	30.42
125	tr20kd06w.spa	Validation	23.18	22.55	2	2.08	8.5	8.49	12.1	12.11	32.8	33.11
126	tr21kd09w.spa	Validation	25.52	24.24	2.1	2.05	8.2	8.24	13.05	12.72	32.12	32.38
127	tr22kd09w.spa	Validation	25.6	26.51	2.1	2.08	8.9	8.27	13.1	12.78	31.3	30.28
128	tr23kd09w.spa	Validation	24.88	25.11	2.1	2.09	8.5	8.27	12.62	12.76	31.2	30.54
133	tr28kd09w.spa	Validation	23.68	21.87	2.1	2.14	7.9	8.41	13	12.55	31.35	33.18
135	tr30kd09w.spa	Validation	21.5	21.55	2.24	2.14	8.7	8.28	13.12	12.58	33	34.74
136	tr31kd12w.spa	Validation	22.8	22.86	2.02	2.14	8.79	8.31	12.76	12.58	34.25	32.76
143	tr38kd12w.spa	Validation	23.88	23.66	2.1	2.11	9	8.71	11.88	12.06	30.3	31.67
145	tr40kd12w.spa	Validation	22.35	22.3	2.1	2.15	8.69	8.75	12.2	11.99	33.64	34.34
146	tr49kd15w.spa	Validation	18.82	19.71	2.2	2.15	8	8.25	12.22	12.3	36.83	37.59
147	tr52kd15w.spa	Validation	19.6	21.01	2.1	2.16	7.8	8.25	12.18	12.28	36.78	37.19

Anexo 9: Data de ALF – TR

Index	File name	Usage	Proteína cruda Actual	Proteína cruda Calculated	Fibra cruda Actual	Fibra cruda Calculated	Extracto etéreo Actual	Extracto etéreo Calculated	Cenizas totales Actual	Cenizas totales Calculated	Fibra detergente neutro Actual	Fibra detergente neutro Calculated
1	al1sw6.spa	Validation	24.9	25.66	11.08	14.16	2.1	2.2	12.05	11.62	35.2	32.64
2	al1sw2r.spa	Calibration	25.16	23.41	13	13.32	2.5	2.42	11.65	11.56	33.5	34.94
9	al3sw2.spa	Calibration	24.8	24.45	12.05	13.06	1.87	1.89	11.1	11.21	32.8	33.04
10	al4sw2.spa	Calibration	24.92	23.93	11.8	12.31	1.96	2.02	11.9	11.84	33.15	34.14
11	al5sw2.spa	Validation	25.2	23.11	11.87	13.99	1.9	2.27	12.14	11.85	32.88	35.31
12	al6sw2.spa	Calibration	25.1	24.06	12.16	12.45	2.5	2.47	12.1	12.05	34.22	34.21
13	al7sw2.spa	Calibration	24.14	24.08	12.29	12.67	2.03	2.07	11.22	11.03	34.02	33.52
14	al8sw2.spa	Validation	24.18	23.93	12.41	14.22	2.28	2.3	11.4	11.32	33.76	33.64
15	al9sw2.spa	Calibration	25.21	24.76	12.54	12.89	2.12	2.12	11.7	11.75	33.5	33.3
16	al10sw2.spa	Calibration	25.25	26.17	12.67	12.9	2.17	2.15	12.19	12.23	32.53	31.75
17	al11sw2.spa	Validation	25.28	24.93	12.79	13.28	2	2.19	12.21	11.9	32.42	32.88
18	al12sw2.spa	Calibration	25.43	25.43	13.3	12.84	2.19	2.16	12.3	12.27	31.95	31.79
19	al13sw2.spa	Calibration	25.36	25.41	13.04	12.98	2.3	2.31	12.26	12.15	32.19	32.12
20	al14sw2.spa	Calibration	25.39	25.12	13.17	12.53	2.34	2.29	12.28	12.44	32.08	32.15
21	al15sw2.spa	Calibration	25.43	26.47	13.3	12.67	2.39	2.42	12.3	12.34	31.96	31.37
23	al17sw2.spa	Validation	23.32	26.89	13	13.64	2.2	2.15	12.26	12.53	32.2	28.94
24	al19sw2.spa	Calibration	25.36	26.49	13.04	12.98	2.3	2.29	12.26	12.48	32.19	31.23
25	al18sw2.spa	Validation	25.39	25.3	13.17	13.08	2.34	2.03	12.28	12.68	33.08	30.41
26	al20sw2.spa	Calibration	25.43	25.99	13.3	12.58	2.39	2.44	12.3	12.24	31.96	31.84

57	al47sw 6.spa	Validation	22.13	23.47	13.92	15.22	2.2	2.45	11.38	10.44	35.32	31.71
58	al48sw 6.spa	Calibration	22.1	23.16	13.35	12.96	2.5	2.51	11.2	11.13	34.05	32.54
59	al49sw 9.spa	Validation	21.55	20.79	13.05	15.31	2.26	2.21	10.12	10.31	34.44	35.27
60	al54sw 6.spa	Calibration	21.74	21.35	16	16.01	1.95	1.99	11.7	11.28	34.2	35.27
61	al51sw 6.spa	Calibration	20.53	21.07	13	13.91	2	2	11.06	11.04	35	35.27
62	al52sw 6.spa	Validation	19.9	20.35	13.53	14.97	2.3	2.18	10.65	10.18	36.38	35.96
63	al53sw 9.spa	Validation	20.38	20.59	14.5	15.43	2.45	2.19	9.71	10.75	36.6	35.87
64	al55sw 6.spa	Calibration	19.8	19.18	14.39	14.63	2.05	2.05	10.2	10.51	35.69	36.45
65	al56sw 9.spa	Calibration	19.34	20.1	15.87	15.4	2.1	2.09	10.15	10.12	37	36.1
66	al57sw 11.spa	Validation	19.54	19.93	16.1	14.86	2.12	2.09	10.1	10.12	35.7	34.62
67	al58sw 11.spa	Calibration	19.4	19.07	16.2	15.99	2.2	2.13	10.02	10.29	36.05	36.37
68	al59sw 11.spa	Calibration	19.03	19.97	16.95	16.74	2.22	2.18	10.22	10.24	36.52	35.08
69	al60sw 11.spa	Validation	18.8	20.21	17.46	16.26	2.45	2.35	10.27	10.04	36.81	34.57
70	al61sw 6.spa	Calibration	18.58	18.79	17.97	17.41	2.29	2.29	10.33	10.23	37.1	36.37
71	al62sw 11.spa	Calibration	18.36	17.82	19.5	17.69	2.33	2.28	10.39	10.33	37.39	36.49
72	al63sw 11.spa	Validation	18.92	19.47	16	15.83	2.2	2.34	8.6	10.27	37.12	35.89
73	al64sw 13.spa	Calibration	21.3	20.48	12.88	14.4	2.5	2.49	8.69	8.76	31.5	33.87
74	al65sw 13.spa	Validation	18.84	21.9	16.15	15.65	2.1	2.36	9.32	9.42	35.2	33.99
75	al66sw 13.spa	Calibration	17.98	18.56	15.78	15.29	2.36	2.4	8.9	8.98	36.92	35.89
76	al67sw 13.spa	Calibration	17.98	18.67	16.5	15.57	2.42	2.48	9.33	9.21	36.86	36.13
77	al68sw 13.spa	Validation	18.44	19.85	15.84	14.7	2.1	2.34	9.21	9.82	38.31	35.64
78	al69sw 13.spa	Calibration	18.69	20.12	15.75	15.76	2.35	2.47	9.17	9.18	37.48	36.35
79	al70sw 13.spa	Calibration	18.94	17.96	15.66	15.76	2.35	2.38	9.14	9.22	37.64	37.53

80	a171sw 15.spa	Calibration	17.84	17.2	13.5	14.68	2.66	2.67	9.12	8.93	37.68	38.25
81	a172sw 15.spa	Calibration	15.4	15.79	16.78	16.34	2.5	2.49	7.75	7.86	37.5	36.97
82	a173sw 15.spa	Validation	15.32	18.25	16.88	15.51	2.2	2.58	8.12	8.87	37.68	36.32
83	a174sw 15.spa	Calibration	15.28	15.46	16.9	16.49	2.78	2.74	8.05	8.06	37.4	37.92
84	a175sw 15.spa	Validation	15.45	17.68	16.75	15.45	2.55	2.33	8.14	9.42	38.05	36.17
85	a176sw 15.spa	Calibration	16.05	15.64	16.78	16.34	2.62	2.59	8.18	8.3	38.1	38.43
86	a177sw 15.spa	Calibration	15.93	16.25	16.78	16.25	2.51	2.55	8.31	8.54	38.27	38.44
87	a178sw 15.spa	Validation	18.07	18.17	16.77	14.92	2.46	2.5	8.4	8.76	35.43	37.25
88	a179sw 15.spa	Calibration	18.22	19.38	17.2	15.61	2.4	2.36	10.49	10.48	39.2	36.62
94	a11wl4. spa	Calibration	18.01	17.7	13.6	14.03	1.65	1.59	11	11.26	32.97	33.34
95	a12wl4. spa	Calibration	17.38	17.24	13.75	13.59	1.61	1.63	10.98	10.86	32.83	32.52
97	a14wl4. spa	Calibration	16.12	16.12	13.6	14.02	1.53	1.57	10.95	10.77	32.55	32.57
98	a15wl4. spa	Calibration	15.49	15.45	13.58	14.32	1.5	1.52	10.93	10.98	32.41	32.92
100	a12wl6. spa	Validation	18.14	20.48	18.99	18.21	2.36	2.58	10.45	10.48	37.69	36.72
101	a13wl6. spa	Calibration	17.92	17.65	21.2	20.58	2.4	2.36	10.51	10.36	37.98	39.1
102	a14wl6. spa	Calibration	17.69	18.01	19.1	19.2	2.44	2.39	10.56	10.36	38.27	38.23
103	a15wl6. spa	Validation	17.47	20.26	20.52	17.91	2.47	2.39	10.62	10.22	35.56	36.83
104	a11wl9. spa	Calibration	17.25	17.46	18	18.18	2.51	2.56	10.68	10.54	38.85	39.35
105	a12wl9. spa	Calibration	17.03	17.51	18.2	17.83	2.55	2.56	10.74	10.86	39.14	40.07
106	a13wl9. spa	Calibration	16.8	17.03	15	15.81	2.38	2.39	8.9	8.98	35.94	37.78
107	a14wl9. spa	Calibration	17.84	16.86	16.38	17.11	2.4	2.34	10.1	10.27	37.1	39.86
108	a15wl9. spa	Validation	19.43	17.97	16	17	2.2	2.48	8.92	9.89	37.6	38.44
110	a12wl1 l.spa	Validation	19.19	18.19	15.57	15.88	2.5	2.3	9.11	9.24	37.81	37.96

111	al3wl1 l.spa	Calibration	19.44	19.28	15.48	15.78	2.36	2.34	9.07	9.07	37	38.05
112	al4wl1 l.spa	Validation	19.69	17.89	15.39	15.48	2.36	2.41	9.04	9.81	38.14	39.51
113	al1wl1 3.spa	Calibration	19.94	19.84	15.3	15.22	2.57	2.55	9	8.87	38.31	38.19
114	al2wl1 3.spa	Calibration	20.19	20.38	15.21	15.72	2.6	2.65	8.97	8.83	38.47	38.14
115	al3wl1 3.spa	Calibration	20.44	20.91	15.12	15.77	2.38	2.4	8.94	9.15	38.64	38.07
116	al4wl1 3.spa	Validation	20.69	16.83	15.03	16	2.58	2.15	8.9	10.01	37.8	40.11
117	al1wl1 5.spa	Calibration	16.79	15.96	16.7	16.61	2.16	2.16	8.84	8.78	39.21	38.45
118	al2wl1 5.spa	Calibration	16.93	15.96	16.69	17.67	2.1	2.07	8.93	8.81	39.37	39.49
119	al3wl1 5.spa	Calibration	17.07	15.47	16.68	17.14	2.04	2.04	9.02	8.95	38.5	38.42
120	al4wl1 5.spa	Validation	17.22	15.01	16.66	15.35	2.06	2.03	9.1	9.49	39	38.81
121	tr01qñ 09w.sp a	Calibration	26.6	26.91	12.6	13	2	2.03	8.88	9.01	30.14	30.62
122	tr02qñ 09w.sp a	Calibration	24.88	24.43	12.72	12.96	2	2	8.7	8.75	30.18	30.86
124	tr04qñ 03w.sp a	Calibration	27.86	26.28	12.74	13.15	1.8	1.77	10.1	10.05	27.52	28.69
125	tr05qñ 03w.sp a	Calibration	27.8	27.9	12.7	13.46	2	2.02	9.92	9.87	26.8	27.74
126	tr06qñ 03w.sp a	Calibration	27.66	27.39	12.2	12.57	1.9	1.86	11	11.04	26.94	27.65
127	tr07qñ 03w.sp a	Validation	27.82	27.53	12.5	12.76	1.9	1.97	10.12	10.31	27.4	28.18
129	tr09qñ 03w.sp a	Calibration	27.86	27.77	12.1	12.2	1.9	1.88	9.8	9.8	27.52	27.4
130	tr10qñ 03w.sp a	Validation	26	28.26	12.2	12.69	1.91	1.8	10.02	10.68	27.8	26.68
132	tr12qñ 03w.sp a	Calibration	27.86	28.63	12.7	11.83	1.9	1.9	10.7	10.8	27.38	26.74
133	tr13qñ 03w.sp a	Calibration	27.7	27.07	12.2	12.77	1.75	1.78	10.05	10.1	27.24	28.14
134	tr14qñ 06w.sp a	Calibration	26.78	26.44	12.58	12.31	2.1	2.09	9.2	9.03	28.5	27.63
135	tr15qñ 06w.sp a	Validation	26.6	24.91	12.38	12.45	2.12	2.05	9.14	9.01	27.95	28.9
136	tr16qñ 06w.sp a	Calibration	26.18	25.15	12.38	12.24	2.12	2.06	9.1	9.17	27.95	28.44

138	tr18qñ 06w.sp a	Calibration	26.2	26.84	11.9	11.7	2	1.98	9.08	9.32	28	27.76
139	tr19qñ 06w.sp a	Validation	25.1	27.1	11.85	11.7	2	2.1	9.1	8.99	30.5	28.43
140	tr20qñ 06w.sp a	Calibration	25.4	25.33	11.9	11.82	2.1	2.1	9.5	9.37	29.7	29.19
142	tr22qñ 06w.sp a	Calibration	26.14	25.51	12.2	12.66	2.05	2.06	9.05	8.95	28.5	28.86
143	tr23qñ 06w.sp a	Calibration	25.88	25.93	12.2	12.64	2.14	2.07	9.05	8.99	29.1	28.22
144	tr04qñ 09w.sp a	Calibration	25.52	25.81	13.1	12.4	2	2.04	9	8.97	31.05	31.1
145	tr05qñ 09w.sp a	Validation	25.5	25.35	13.05	12.12	2	1.95	8.5	9.08	31.1	30.06
146	tr06qñ 09w.sp a	Calibration	25.48	25.84	12.94	12.45	2.1	2.12	7.88	8.07	31.2	30.36
148	tr08qñ 09w.sp a	Calibration	25.2	25.77	12.84	12.7	2	2.04	8.82	8.67	30.27	29.49
149	tr09qñ 09w.sp a	Validation	25.71	26.9	12.72	12.09	2.1	1.98	8.85	9.08	30.72	28.75
150	tr10qñ 09w.sp a	Calibration	25.62	25.93	13	12.95	2.12	2.15	8.98	9.14	31.57	30.55
152	tr24qñ 12w.sp a	Calibration	24.88	24.87	12.88	12.4	2.05	2.12	7.8	7.8	31.3	32.06
153	tr25qñ 12w.sp a	Calibration	22.92	22.88	12.74	12.99	2.12	2.14	8.6	8.64	32.12	32.53
154	tr26qñ 12w.sp a	Calibration	22.3	23.26	12.82	12.55	2.02	2.06	8.69	8.72	32.18	31.22
156	tr28qñ 12w.sp a	Validation	23.2	24.6	12.69	13.72	2	2.19	8.73	7.79	30	31.83
157	tr39qñ 15w.sp a	Calibration	16.8	17.33	12	12.08	2.1	2.11	7.75	7.78	37.5	36.73
158	tr29qñ 12w.sp a	Calibration	22.3	22.82	12.82	12.67	2.12	2.1	7.8	7.68	31.2	31.4
159	tr40qñ 15w.sp a	Validation	17.84	20.19	12.12	13.05	2.2	2.19	8.12	7.67	37.68	34.45
161	tr41qñ 15w.sp a	Calibration	17.84	18.39	12.05	12.21	2.05	2.15	8.05	7.99	37.66	36.62
162	tr31qñ 12w.sp a	Validation	22.88	22.89	12.82	13.43	2.2	2.21	8.55	7.91	31.35	31.69
163	tr42qñ 15w.sp a	Calibration	18.98	19.32	11.8	11.72	2.1	2.11	8.14	8.13	38.05	37.22
164	tr32qñ 12w.sp a	Calibration	23.92	24.03	12.82	12.66	2.05	2.09	8.78	8.73	34.4	32.61
165	tr43qñ 15w.sp a	Calibration	17.98	19.45	11.87	11.37	2.05	2.06	8.8	8.78	38.1	36.14

166	tr33qñ 12w.sp a	Calibration	22.8	22.95	12.93	12.95	2.22	2.19	8.94	8.88	32.68	32.47
167	tr34qñ 15w.sp a	Calibration	17.95	19.52	11.75	12.31	2.1	2.15	7.78	7.86	38.9	37.36
169	tr36qñ 15w.sp a	Calibration	17.9	17.65	12.18	12.25	2.1	2.08	8.05	8.21	37.74	37.59
171	tr38qñ 15w.sp a	Calibration	16.8	17.29	12.12	12.4	2.1	2.07	8.14	8.23	38.1	37.22
175	tr04kd 03w.sp a	Calibration	28.5	28.66	12.8	12.52	2.4	2.4	9	9.05	26.84	27.56
176	tr05kd 03w.sp a	Validation	29.8	25.74	12.5	12.65	2.4	2.33	9	9.22	27.1	27.94
177	tr06kd 03w.sp a	Calibration	28.9	28.9	12.82	12.44	2.42	2.4	8.75	8.66	28.78	27.93
178	tr07kd 03w.sp a	Calibration	26.74	26.74	12.1	12.11	2.5	2.46	9.18	9.13	28.92	28.37
179	tr08kd 03w.sp a	Calibration	26.78	26.54	12.76	13.22	2.5	2.46	9.2	9.29	28.5	27.93
180	tr09kd 03w.sp a	Calibration	26.6	26.39	12.45	12.09	2.5	2.57	9.14	8.83	28.55	29.01
181	tr10kd 03w.sp a	Calibration	26.9	26.35	12.76	12.67	2.6	2.58	9.16	9.07	27.95	28.35
183	tr11kd 06w.sp a	Calibration	26.2	26.55	12.76	11.36	2	1.98	9.14	9.17	28.56	29.53
184	tr12kd 06w.sp a	Validation	26.14	24.91	11.9	10.46	2	2.18	8.2	9.38	30.2	32.45
185	tr13kd 06w.sp a	Calibration	26.42	26.77	11.85	11.67	2	2.05	9.02	9.38	27.95	29.3
187	tr15kd 06w.sp a	Validation	25.88	24.01	12.6	12.12	2	2.17	8.74	8.66	31.05	32.59
188	tr16kd 06w.sp a	Calibration	26.42	26.18	12.38	11.26	2.18	2.13	8.7	8.79	30.22	30.81
189	tr17kd 06w.sp a	Calibration	26.14	25.23	12.2	12.08	2.14	2.15	8.88	8.72	30.18	31.8
192	tr20kd 06w.sp a	Validation	23.18	21.08	12.1	12.98	2	2.26	8.5	7.94	32.8	35.27
193	tr21kd 09w.sp a	Validation	25.52	25.06	13.05	12.02	2.1	2.15	8.2	8.24	32.12	31.98
194	tr22kd 09w.sp a	Validation	25.6	26.77	13.1	11.43	2.1	2.19	8.9	8.85	31.3	30.32
195	tr23kd 09w.sp a	Validation	24.88	24.5	12.62	11.49	2.1	1.94	8.5	9.08	31.2	32.07
196	tr24kd 09w.sp a	Calibration	25.59	25.53	12.72	12.02	2.22	2.23	8.55	8.53	31.1	30.7
197	tr25kd 09w.sp a	Calibration	25.59	25.5	12.72	12.28	2.22	2.16	8.55	8.38	31.1	30.53

199	tr27kd 09w.sp a	Calibration	24.88	23.93	12.67	12.49	1.87	1.93	8.5	8.56	31.4	32.73
200	tr28kd 09w.sp a	Validation	23.68	25.44	13	11.22	2.1	2.24	7.9	8.79	31.35	32.18
202	tr30kd 09w.sp a	Validation	21.5	23.17	13.12	12.03	2.24	2.21	8.7	8.55	33	34.4
203	tr31kd 12w.sp a	Validation	22.8	21.28	12.76	13.3	2.02	2.15	8.79	8.05	34.25	35.23
204	tr32kd 12w.sp a	Calibration	25.48	25.5	12.81	12.9	2.15	2.14	8.65	8.52	32.16	32.8
206	tr34kd 12w.sp a	Calibration	25.92	25.28	12.4	12.83	2.12	2.11	8.65	8.52	32.12	33.43
208	tr36kd 12w.sp a	Calibration	22.8	22.42	12.76	13.07	2	1.95	8.79	8.85	34.25	34.83
210	tr38kd 12w.sp a	Validation	23.88	23.79	11.88	12.21	2.1	2.12	9	8.77	30.3	33.24
211	tr39kd 12w.sp a	Calibration	23.92	23.28	11.74	11.95	2.22	2.19	8.1	8.35	33.1	34.7
212	tr40kd 12w.sp a	Validation	22.35	22.58	12.2	12.31	2.1	1.97	8.69	9.01	33.64	33.34
223	tr49kd 15w.sp a	Validation	18.82	21.27	12.22	12.96	2.2	2.27	8	8	36.83	35.44
224	tr52kd 15w.sp a	Validation	19.6	22.52	12.18	12.83	2.1	2.16	7.8	7.97	36.78	34.2
225	tr53kd 15w.sp a	Calibration	16.8	17.51	12.12	13.39	2.1	2.15	8.05	7.87	37.68	36.92
227	tr55kd 15w.sp a	Calibration	17.98	17.76	11.87	12.77	2.2	2.14	7.78	7.81	38.1	37.94
229	tr57kd 15w.sp a	Validation	19.8	20.38	12.12	13.27	2.2	2.25	8.12	8.15	37.5	35.34
230	tr58kd 15w.sp a	Validation	17.98	20.68	12.05	13.37	2.2	2.16	8.05	7.97	38.05	34.56